

# 延安地区马齿苋中总黄酮的提取与含量测定

冯晓东,周海华,常海飞,黑淑梅

(延安大学 生命科学学院, 陕西 延安 716000)

**摘要:**采用超声波细胞破碎法和索氏提取法提取马齿苋中的总黄酮,用比色法测定总黄酮含量,通过正交试验确定超声波细胞破碎法的最佳提取条件。结果表明,超声波细胞破碎法提取的影响因素顺序为:料液比 > 乙醇浓度 > 提取时间;用超声波细胞破碎法提取马齿苋中总黄酮的最佳条件为:料液比为 1 g: 20 mL、乙醇体积分数为 90%、提取时间 40 min。测得马齿苋中总黄酮含量为 5.63%。

**关键词:**马齿苋;总黄酮;正交试验;超声波细胞破碎法

**中图分类号:** O657.32    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1004-602X(2011)04-0087-03

马齿苋(*Portulaca oleracea*L.)属一年生肉质草本植物,又称马齿草、马齿、五行草等,分布于我国大部分地区,马齿苋中富含维生素、蛋白质、多糖、有机酸等主要营养成分,因此具有食用和药用双重价值<sup>[1]</sup>。随着人们对马齿苋化学成分的进一步研究,发现马齿苋中含有多种活性因子,对人体有着多种保健及疾病治疗作用,黄酮类化合物就是马齿苋中主要的活性因子之一,它有多种药理活性,如扩张冠状血管、降低血压、止咳去痰、抗菌消炎、抗毛细血管脆性等,除此而外它还有抗氧化、抗衰老等作用<sup>[2]</sup>,马齿苋对大肠杆菌、痢疾杆菌、金黄色葡萄球菌以及某些致病性真菌有抑制作用;马齿苋所含的去甲肾上腺素能促进胰岛素的分泌,从而起到调节血糖的作用;还含有 $\alpha$ -亚麻酸、 $\omega$ -脂肪酸,具有降低血脂抗动脉粥样硬化的作用<sup>[3]</sup>。有关马齿苋中黄酮类化合物的提取和含量测定报道很多,但对延安地区马齿苋中黄酮类的研究还未见报道,本研究探讨了马齿苋中总黄酮的提取方法及最佳提取条件,并对延安地区马齿苋中总黄酮进行了定量测定,以期对延安地区马齿苋的开发利用提供一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

马齿苋,二〇〇八年八月采于陕西延安。将新鲜马齿苋全草洗净,晾至表面无水分,分别置于恒温干燥箱中,80℃下恒温干燥,粉碎过60目筛<sup>[4]</sup>,备用。

### 1.2 仪器与试剂

FW80 微型高速万能试样粉碎机; JY96 - II 超声波细胞粉碎机; HX - 1050 恒温循环器; 722N 可见分光光度计; CS101 - 2 电热鼓风干燥箱; MP200A 电子天平; 索氏提取器。

芦丁(上海国药集团化学试剂有限公司出品,纯度 $\geq 95.0\%$ ),乙醇,  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ,  $\text{NaOH}$ , 所用试剂均为分析纯。

### 1.3 方法

1.3.1 马齿苋总黄酮的测定采用  $\text{NaNO}_2$ - $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  比色法<sup>[5]</sup>测定。

1.3.2 芦丁标准液的制备 精密称取干燥至恒重的芦丁 200 mg,置于 100 mL 的容量瓶中,加 70% 乙醇适量,放置于恒温水浴锅上微热,轻轻摇动容量瓶,

收稿日期: 2011 - 10 - 07

作者简介: 冯晓东(1968—),男,山西河津人,延安大学副教授。

使其溶解,待溶解冷却后加 70% 乙醇至刻度线,摇匀。精密量取上述试液 10.0 mL 置 100 mL 容量瓶中,用蒸馏水稀饰至刻度,摇匀。即得每 1 mL 含无水芦丁 0.2 mg。

1.3.3 标准曲线的绘制 精密量取上述标准溶液 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mL,分别置于 50 mL 容量瓶中,各加水 12 mL,分别加入 5%  $\text{NaNO}_2$  溶液 2 mL 摇匀,放置 6 min 后,然后分别加入 10%  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液 2 mL,摇匀放置 6 min,后分别加入 4%  $\text{NaOH}$  溶液 20 mL,最后分别加蒸馏水至刻度、摇匀,静置 15 min,在 510 nm 波长处测定吸收值,每浓度重复 3 次。得回归方程为:  $y = 10.804x - 0.0025$  ( $y$  为吸光度,  $x$  为芦丁浓度 mg/mL)。

1.3.4 样品中总黄酮含量的提取与测定 称取不同部位(茎或叶)中的马齿苋干粉 1 g 分别溶于置有不同体积不同浓度乙醇溶液的小烧杯中搅拌混匀,于超声波细胞粉碎机中粉碎一定时间后趁热过滤,将溶液定容至 50 mL,取 1 mL 于 50 mL 容量瓶中,按标准曲线的制备方法操作,最后用蒸馏水定容,在波长 510 nm 处测定溶液的吸光度;将过滤后的滤渣包好用索氏提取法提取,提取至提取室无色为止<sup>[5]</sup>,过滤提取液用 70% 乙醇重新定容至 50 mL 容量瓶中,按标准曲线相同的方法显色,最后用蒸馏水定容,在 510 nm 波长处测定溶液的吸光度。

1.3.4 样品含量的计算 将两次测定的吸光度值分别代入回归方程得提取液中总黄酮的含量。

黄酮含量 =  $c_1$  (mg/mL)  $\times$  50  $\times$  50 mL +  $c_2$  (mg/mL)  $\times$  50  $\times$  50 mL。

总黄酮得率(%) =  $[c_1$  (mg/mL)  $\times$  50  $\times$  50 mL +  $c_2$  (mg/mL)  $\times$  50  $\times$  50 mL] / 1000 mg。

其中:  $c_1$  为超声波细胞破碎器提取后测得的浓度,  $c_2$  索氏提取后测得的浓度。

表 1 超声波细胞破碎法提取总黄酮正交试验因素水平表

水平	因素		
	时间/min(A)	乙醇浓度%(B)	料液比g/mL(C)
1	20	70	1:15
2	30	80	1:20
3	40	90	1:25

1.3.5 正交试验 在超声波细胞破碎提取中,选择主要影响提取效率的提取时间(A)、料液比(B)、乙醇体积分数(C)为考察因素,每个因素三个水平进行  $L_9(3^4)$  正交试验,见表 1。称取马齿苋干粉 9 份,每份 0.987 g,按表 1 设计的工艺条件进行超声波细

胞破碎提取,提取液按上述 1.3.3 方法测定总黄酮的含量。

## 2 实验结果

### 2.1 正交试验

正交试验极差分析表明:3 个因素对超声波破碎法提取马齿苋中类黄酮物质提取效果的影响主次顺序为:料液比 > 乙醇浓度 > 提取时间,即料液比的影响最大,其次是乙醇体积分数,提取时间的影响最小,得到最佳提取条件是  $\text{C}_2\text{B}_3\text{A}_3$ ,即:料液比为 1 g : 20 mL、乙醇体积分数为 90%、提取时间为 40 min。

方差分析表明,料液比和乙醇浓度对总黄酮的提取有显著影响,与直观分析结果一致。

### 2.2 加样回收率实验

取已知总黄酮含量的马齿苋供试品溶液 1.0 mL,分别加入芦丁标准品溶液,按“1.3.4”方法测定实际含量,结果平均回收率为 98.3%,RSD = 2.13% ( $n = 5$ )。

表 2 正交试验设计及结果

序号	因素				提取率 %
	(A) 时间 /min	(B) 乙醇 浓度%	(C) 料液比 g/mL	(D) 空 列 1	
1	1	1	1	1	3.86
2	1	2	2	2	4.19
3	1	3	3	3	4.21
4	2	1	2	3	4.33
5	2	2	3	1	4.16
6	2	3	1	2	4.23
7	3	1	3	2	4.05
8	3	2	1	3	4.08
9	3	3	2	1	4.53
K1	12.26	12.24	12.17	12.55	
K2	12.72	12.43	13.05	12.47	
K3	12.66	12.97	12.42	12.62	
R	0.46	0.73	0.88	0.15	

表 3 方差分析表

变异来源	SS	df	MS	F	$F_{0.05}(2,2)$	$F_{0.01}(2,2)$
提取时间(A)	0.0417	2	0.021	11.05	19.00	99.00
乙醇浓度(B)	0.0956	2	0.048	25.26*		
料液比(C)	0.137	2	0.069	36.32*		
误差	0.0038	2	0.0019			

### 2.3 马齿苋中总黄酮的含量

在上述最佳提取条件下,经3次重复得出了初次提取的提取率,再用索氏提取器提取超声波提取后滤渣中的总黄酮,得出马齿苋中总黄酮的含量结果如表4。结果总黄酮提取百分率分别为5.61, 5.63, 5.64,均高于正交实验数据,说明优选出的工艺条件是稳定可行的。

表4 延安地区马齿苋中总黄酮的含量

测定次数	初次提取率 (%)	二次提取率 (%)	总提取率 (%)	平均值 (%)
1	4.79	0.82	5.61	
2	4.81	0.82	5.63	5.63 ± 0.015
3	4.75	0.89	5.64	

注:初提取率为超声波提取,二次提取率为索氏提取器提取

### 3 讨论

(1)从实验结果来看,影响超声波细胞粉碎法提取马齿苋中黄酮类化合物主次顺序为:料液比 >

乙醇浓度 > 提取时间,因为提取时间对总黄酮的提取相对较小,生产实践中,为了降低成本,可取提取时间为30 min,即:料液比为1g:20 mL、乙醇体积分数为90%、提取时间30 min。

(2)超声波细胞破碎法结合索氏提取法减少了提取次数,整个过程提取时间大约为4 h,提取用时较短,是总黄酮提取中的一种可行的方法。

#### 参考文献:

- [1]朱丽. 马齿苋的研究现代与综合开发利用[J]. 河北林果研究,2006,21(2):198-199.
- [2]韩国萍. 马齿苋的药理作用及营养保健作用[J]. 西北药学杂志,2003,18(2):89-90.
- [3]刘洁,李春艳. 马齿苋对高脂血症大鼠血脂水平的影响[J]. 中国临床康复,2004,8(30):6678-6679.
- [4]张京芳. 马齿苋黄酮类物质提取工艺研究[J]. 西北林学院学报,2004,19(4):123-126.
- [5]黄锁义,姚小敏,覃成箭,等. 竹叶中黄酮的提取及鉴别[J]. 时珍国医国药,2006,17(7):1228-1229.

[责任编辑 李晓霞]

## Extraction and Determination of Total Flavonoids from *Portulaca Oleracea* L. in Yan an

FENG Xiao-Dong, ZHOU Hai-hua, CHANG Hai-Fei, HEI Shu-Mei

(College of Life Science, Yan an University, Yan an 716000, China)

**Abstract:** Through ultrasonic cell - break method and Soxhlet extractions to extract the flavonoids in *Portulaca oleracea* L. and determinate its contents by UV spectrophotometry, the best condition of the extraction was selected by using orthogonal experiment. The results showed that factors influencing the extraction were in the order as follows: solid - liquid ratio > ethanol concentration > extractive time; the optimal extracting conditions extracted the flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by the Ultrasonic cell - break method and Soxhlet extractions is: solid - liquid ratio 1:50( g/mL) , ethanol concentration 90% and extractive time 40min. The contents of flavonoids from the *Portulaca oleracea* L. in Yan an were 5.63% .

**Key words:** *Portulaca oleracea* L. ; total flavonoids; orthogonal experiment; Ultrasonic cell - break method