

苦菜和蒲公英中总黄酮含量及其抗氧化活性分析

张 坤,李亦楠,苏 艳,于军香,郝冬梅,井文倩
(临沂大学 生命科学学院,山东 临沂 276005)

摘要:为加强苦菜和蒲公英的进一步开发利用,研究了乙醇浓度、料液比和提取时间对苦菜和蒲公英总黄酮得率以及不同浓度提取物对苦菜和蒲公英抗氧化活性的影响。结果表明:苦菜和蒲公英总黄酮提取的最优化条件为提取液乙醇的浓度为 60%,料液比为 1:30,超声提取时间为 0.5 h,总黄酮得率分别为 6.44%和 17.56%。苦菜和蒲公英提取物对 DPPH 自由基清除率随样品提取物浓度的增大而升高,在浓度为 9.6 mg·mL⁻¹时,苦菜和蒲公英提取物的 DPPH 自由基清除率都达到最大,分别为 76.47%和 80.39%。

关键词:苦菜;蒲公英;总黄酮;抗氧化活性

中图分类号:Q949.783.5;Q946

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)11-0099-03

苦菜和蒲公英均为菊科多年生草本植物,是传统的药用植物,其全草具有很高的药用价值,含有多重活性成分,如甾醇、苦素和黄酮类等,具有消炎利胆、降压降脂、预防肿瘤和增强人体免疫力等多种作用^[1-5]。近年来的研究表明,苦菜和蒲公英的药用价值与其所含黄酮类物质有着极大的关系,引起了人们的广泛关注^[6-7]。对于自由基生物学的研究表明,黄酮类物质的许多生物学效应均与活性氧自由基的清除作用密切相关^[8]。目前国内对苦菜和蒲公英的有效成分及应用的研究报道较少,对于二者的比较尚未见文献报道。该文对苦菜和蒲公英中总黄酮的含量及其抗氧化活性进行分析和比较,为苦菜和蒲公英的进一步开发利用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试作物为苦菜和蒲公英,二者均为野生型,于 2013 年 5 月采于临沂大学校园。供试试剂为 DPPH(1,1-二苯基-2-苦基肼自由基)、芦丁标准品(Sigma-Fluka 公司)、无水乙醇、NaOH、Al(NO₃)₃和 NaNO₂等,均为国产分析纯。仪器与设备为 UV-2450 型紫外-可见分光光度计(上海菁华科技仪器有限公司)、FA2004 电子分析天平(上海恒平科学仪器有限公司)、DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒实验仪器有限

公司)和 KQ-250DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 总黄酮成分提取 取苦菜和蒲公英地上部分,洗净烘干,粉碎成粉,过 0.6 mm 筛,置于棕色瓶内储藏备用。分别称取苦菜和蒲公英粉 1.000 g 于三角瓶中溶解,共 9 份,放入超声波清洗器中(超声功率 120 W,温度为 50℃)提取,过滤定容至 100 mL^[9]。

为快速提取苦菜和蒲公英中的总黄酮成分,采用正交试验确定提取的最佳条件。选择乙醇浓度、料液比和提取时间 3 个水平进行试验(见表 1)。

表 1 正交试验因素及水平

Table 1 Factors and level of orthogonal test

处理 Treatments	因素 Factors		
	A 乙醇浓度/% Ethanol concentration	B 料液比/g·mL ⁻¹ Solid-liquid ratio	C 提取时间/h Extraction time
1	50	1:10	0.5
2	60	1:20	1.0
3	90	1:30	2.0

1.2.2 总黄酮含量测定 分 3 个步骤进行。

(1)芦丁标准溶液的制备:将芦丁标准品于 120℃下干燥 30 min,称取干燥后样品 20 mg,用 30%乙醇溶解,定容到 100 mL,配制成浓度为 0.2 mg·mL⁻¹的芦丁标准溶液。

(2)标准曲线的制作:分别吸取 0,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0 mL 芦丁标准溶液,置于 50 mL 比色管中,加入 2.0 mL 5%的 NaNO₂溶液,混匀后放置 5 min,再加入 2.0 mL 10%的 Al(NO₃)₃溶液,摇匀后放置 5 min,加入 10 mL 4%的 NaOH 溶液,最后用 30%乙醇定容至 50 mL,摇

收稿日期:2013-08-12

基金项目:山东省生物化学精品课程资助项目

第一作者简介:张坤(1991-),男,山东省枣庄县人,学士,从事生物技术研究。E-mail:zcaicy@163.com。

通讯作者:井文倩(1976-),女,山东省临沂市人,博士,副教授,从事生物化学研究。E-mail:yujunxiang@lyu.edu.cn。

匀后放置 10 min,在 510 nm 下用紫外分光光度计测定各样品吸光值。以吸光度 A 值为纵坐标(Y),以标准样品浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,计算线性回归方程。得到的线性回归方程为: $Y=0.017X-0.0124$,相关系数 $R^2=0.994$ 。即在 $0\sim0.02\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,芦丁标准样品浓度与吸光度的线性关系良好。

(3)总黄酮含量的测定:吸取黄酮提取液 1.0 mL 于 50 mL 比色管中,按照芦丁标准溶液吸光度的方法测定样品的吸光度,将吸光度值代入回归方程求得总黄酮得率^[10]。总黄酮得率(%)= $m/M\times 100$;式中:m 为经换算后提取液中总黄酮质量(g);M 为样品质量(g)。

1.2.3 抗氧化活性测定 DPPH 溶液的配制:准确称取 DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯肼)标准品 0.147 1 g,用 95%乙醇溶解并定容至 100 mL,得质量浓度为 $147.1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 DPPH 溶液,冷藏备用^[11]。

分别取适量苦菜和蒲公英样品于试管内,加入 0.50 mL DPPH 溶液,定容至 25 mL,室温反应 30 min,在 517 nm 波长处测定混合溶液的苦菜吸光度 A_1 和蒲公英吸光度 A_2 。同时取 0.50 mL

DPPH 溶液,定容至 25 mL,室温反应 30 min,用紫外分光光度计在 517 nm 波长处测定混合溶液的吸光度 A_0 ,重复 3 次,取平均值^[6]。苦菜 DPPH 自由基清除率(%)= $(A_0-A_1)/A_0\times 100$,蒲公英 DPPH 自由基清除率(%)= $(A_0-A_2)/A_0\times 100$ 。

2 结果与分析

2.1 各因素对苦菜和蒲公英总黄酮得率的影响

由表 2 可知,在 A,B,C 3 个因素分别对苦菜和蒲公英总黄酮得率的影响中,根据 R 值的大小可以看出 3 个因素的主次关系均为 $A>C>B$,乙醇浓度为最重要因素,其次为提取时间,再次为料液比。从表中 K 值来看,苦菜和蒲公英最优组合均为 $A_2B_3C_3$,而总黄酮得率最高的组合均为 $A_2B_3C_1$,故进行验证性试验,由表 3 可知,两方案的黄酮得率差异不显著(苦菜 $F_{6.32}<F_{(0.05)}7.71$,蒲公英 $F_{1.71}<F_{(0.05)}7.71$),因此,试验选定 $A_2B_3C_1$ 为最佳组合,即乙醇浓度 60%,料液比为 1:30,提取时间 0.5 h。在同等条件下,蒲公英总黄酮最高得率高于苦菜,这可能与季节及采摘时二者处于不同的生长阶段有关。

表 2 正交试验测得苦菜和蒲公英总黄酮得率

Table 2 The total flavone of sowthistle and dandelion by orthogonal test

试验号 No.	A 乙醇浓度/% Ethanol concentration	B 料液比/ $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ Solid-liquid ratio	C 提取时间/h Extraction time	总黄酮得率/% Total flavone
				苦菜 Sowthistle 蒲公英 Dandelion
1	50	1:10	0.5	5.93 17.47
2	50	1:20	1.0	6.02 17.48
3	50	1:30	2.0	6.19 17.49
4	60	1:10	1.0	6.21 17.51
5	60	1:20	2.0	6.30 17.53
6	60	1:30	0.5	6.44 17.56
7	90	1:10	2.0	6.40 17.54
8	90	1:20	0.5	6.25 17.52
9	90	1:30	1.0	5.98 17.49
K_1 (苦菜/蒲公英)	18.14/52.44	18.54/52.52	18.62/52.55	
K_2 (苦菜/蒲公英)	18.95/52.60	18.57/52.53	18.21/52.48	
K_3 (苦菜/蒲公英)	18.63/52.55	18.61/52.54	18.89/52.56	
R (苦菜/蒲公英)	0.81/0.16	0.07/0.02	0.68/0.08	

表 3 验证试验结果

Table 3 Verification testing result

处理 Treatments		总黄酮得率/% Total flavone			
		I	II	III	平均值 Average
苦菜 Sowthistle	$A_2B_3C_3$	5.90	6.18	5.46	5.85 a
	$A_2B_3C_1$	6.47	6.69	6.24	6.47 a
蒲公英 Dandelion	$A_2B_3C_3$	17.59	18.64	16.58	17.60 a
	$A_2B_3C_1$	16.55	17.51	15.47	16.51 a

注:小写字母表示差异显著($P\leq 0.05$)。

Note: Lowercases mean significant difference at 0.05 level.

2.2 提取物浓度对苦菜和蒲公英抗氧化活性的影响

由表 4 可知,苦菜和蒲公英提取物对 DPPH 自由基都有一定的清除作用,对 DPPH 自由基的清除率与苦菜和蒲公英提取物的质量浓度有关,清除率随提取物质量浓度的增加而升高,当样品质量浓度为 $9.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,苦菜和蒲公英提取物的清除率均最大。谷肆静等认为,随着样品浓

度的增加,蒲公英提取物的清除率不断增加,但达到一定浓度时清除率不再增加。该试验中当样品质量浓度大于 $9.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,苦菜和蒲公英提取物的清除率变化趋势如何还不得知,关于这一点还有待于进一步研究。在同等条件下,蒲公英的 DPPH 自由基清除率要大于苦菜,这与表 2 中二者总黄酮得率呈正相关,说明黄酮类物质的生物学效应均与活性氧自由基的清除作用密切相关。

表 4 提取物浓度对苦菜和蒲公英抗氧化活性的影响

Table 4 The effect of extract concentration on antioxidant activity of sowthistle and dandelion

提取物浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ Concentration	吸光度 Absorbance			DPPH 自由基清除率/% Free radical scavenging activity	
	A_0	A_1 (苦菜)	A_2 (蒲公英)	苦菜 Sowthistle	蒲公英 Dandelion
1.6	0.51	0.36	0.33	29.45	35.29
3.2	0.51	0.32	0.23	37.25	54.90
4.8	0.51	0.21	0.19	58.82	62.75
6.4	0.51	0.18	0.16	64.71	68.63
8.0	0.51	0.15	0.12	70.59	76.47
9.6	0.51	0.12	0.11	76.47	80.39

3 结论

试验明确了乙醇浓度、料液比及提取时间对苦菜和蒲公英总黄酮得率的影响。乙醇浓度为最重要因素,其次为料液比,提取时间为不重要因素。苦菜和蒲公英总黄酮提取的最优化条件为:提取液乙醇的浓度为 60%,料液比为 1:30,提取时间为 0.5 h。在同等条件下,蒲公英总黄酮得率高于苦菜。苦菜和蒲公英提取物对 DPPH 自由基清除率随样品提取物浓度的增大而升高,当浓度为 $9.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,苦菜和蒲公英提取物的 DPPH 自由基清除率均达到最大,分别为 76.47%、80.39%。

参考文献:

- [1] 刘娇. 药食兼优的苦菜[J]. 杭州食品科技, 2007(2): 27-27.
- [2] 王晓飞, 王晓静. 中华苦蕒草化学成分研究[J]. 中草药, 2007, 38(8): 1151-1152.

- [3] 凌云, 鲍燕燕, 张永林, 等. 兴安蒲公英的化学成分研究[J]. 中草药, 2000, 31(1): 10-11.
- [4] 陈景耀, 吴国荣, 王习达, 等. 蒲公英研究进展[J]. 中国医学生物技术应用杂志, 2004(2): 6-11.
- [5] 王二霞, 赵健, 琚争艳, 等. 苦菜及其研究开发现状[J]. 食品工业科技, 2008, 29(10): 272-274.
- [6] 韩阳阳, 王天晓, 朱海芳, 等. 苦菜不同部位提取物的抗氧化活性[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 45-48.
- [7] 刁全平, 侯冬岩, 回瑞华, 等. 辽宁苦菜中总黄酮含量及抗氧化性能分析[J]. 鞍山师范学院学报, 2011, 13(2): 33-35.
- [8] 陈景耀, 吴国荣, 王习达, 等. 蒲公英黄酮类物质的抗氧化活性[J]. 南京师大学报, 2005, 28(1): 84-87.
- [9] 谷肆静, 王立娟. 蒲公英总黄酮的提取及其抑菌性能[J]. 东北林业大学学报, 2007, 35(8): 43-45.
- [10] 周伟, 邵荣, 吴俊, 等. 蒲公英黄酮的超声辅助提取工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(5): 2696-2698.
- [11] 楚红英, 李瑜, 李华北, 等. 苦菜中总黄酮的提取与含量测定[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(24): 12017-12019.

Determination of Total Flavonoids and Antioxidation Activity of Sowthistle and Dandelion

ZHANG Ku, LI Yi-nan, SU Yan, YU Jun-xiang, XI Dong-mei, JING Wen-qian

(College of Life Sciences, Linyi University, Linyi, Shangdong 276005)

Abstract: For the development and utilization of dandelion and sowthistle, The effect of ethanol concentration, solid-liquid ratio and extraction time on total flavones and extraction concentration and antioxidation activity of sowthistle and dandelion were studied. The results showed that the optimum extraction conditions of total flavonoids of sowthistle and dandelion were 6.44% and 17.56% at 60% ethanol solution, 1:30 solid-liquid ratio and 0.5 h for extraction. With the increasing of extraction concentration, the DPPH free radical scavenging activity of sowthistle and dandelion were increasing, when extraction concentration was $9.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the DPPH free radical scavenging activity were 76.47% and 80.39% respectively.

Key words: sowthistle; dandelion; total flavonoids; antioxidation activity