

救心菜、明月草和铜钱草的总黄酮含量测定与评价*

朱成豪¹, 宁莞权², 曹其义², 唐健民¹, 邹蓉¹, 韦霄¹, 韦记青^{1**}

(1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西植物功能物质研究与利用重点实验室, 广西桂林 541006; 2. 百色学院农业与食品工程学院, 广西百色 533000)

摘要:为探索救心菜 *Coral dealbatus*、明月草 *Gynura divaricata* (Linn.) DC. 和铜钱草 *Hydrocotyle chinensis* (Dunn) Craib 作为特色蔬菜的开发价值, 采用超声波辅助醇溶液法提取 3 种药食兼用蔬菜的总黄酮含量, 并评价其粗提液体外抗氧化能力。结果表明, 在救心菜、明月草和铜钱草各自的较优提取条件下, 其总黄酮类物质的最高含量分别为 2.14%、1.27% 和 5.37%, 以铜钱草总黄酮含量最高。3 种菜粗提液对 DPPH· 的清除能力以救心菜最高, 总还原力为 VC>救心菜>铜钱草>明月草。救心菜在推广种植、市场开发方面的优势更好, 总黄酮含量也相对较高, 是药食兼用的理想保健品。明月草和铜钱草总黄酮含量虽高, 但其抗氧化活性不好, 开发成为药食兼用的理想保健品的价值相对较低。

关键词:救心菜 明月草 铜钱草 总黄酮 抗氧化活性

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2020)04-0362-06

DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20200924.010

0 引言

救心菜 *Coral dealbatus* 又名费菜、养心草、养心菜等, 是景天科 Crassulaceae 多年生肉质宿根草本植物, 其幼苗及嫩叶可食用, 滑润可口, 风味独特, 可凉拌、烧汤、热炒、泡茶等, 是一种营养丰富的保健蔬菜^[1-4]。明月草 *Gynura divaricata* (Linn.) DC. 又称白背三七、白子菜, 是菊科 Compositae 菊三七属 *Gynura* 多年生常绿植物, 其茎叶可食用, 具有降血糖、降血压、增强人体免疫力、舒张血管、抑制胃酸分

泌、抗血栓、抗组胺、防癌变等功效^[5-8]。铜钱草 *Hydrocotyle chinensis* (Dunn) Craib 是伞形科 Umbelliferae 天胡荽属 *Hydrocotyle* L. 植物, 其叶可食用, 具有清热解毒, 治砂淋、黄疸、肝炎、肾炎、肝火头痛、火眼、百日咳、祛湿退黄, 利尿消肿等作用^[9-10]。这 3 种特色蔬菜均可用于日常饮食, 但目前的开发利用情况却并不一致。随着人们生活水平的不断提高, 对自身健康的维护意识也日渐增强, 人们越来越重视日常饮食, 药食兼用的特色蔬菜开始受到青睐。药食兼用蔬菜是指既可当作蔬菜食用又可祛病健身的植

* 中央引导地方科技发展专项(桂科 ZY1949013), 广西科技基础和人才专项(桂科 AD17129022), 广西植物研究所基本业务费项目(桂植业 18013, 18014 和 19002)和广西植物功能物质研究与利用重点实验室项目(ZRJ2018-9)资助。

【作者简介】

朱成豪(1994—), 男, 硕士, 主要从事中药资源开发及检验工作, E-mail: 862570831@qq.com。

【**通信作者】

韦记青(1968—), 女, 研究员, 主要从事药用植物学和园林栽培研究, E-mail: weijiqing@gxib.cn。

【引用本文】

朱成豪, 宁莞权, 曹其义, 等. 救心菜、明月草和铜钱草的总黄酮含量测定与评价[J]. 广西科学, 2020, 27(4): 362-367.

ZHU C H., NING G Q., CAO Q Y., et al. Determination and Evaluation of Total Flavonoids Content in the *Coral dealbatus*, *Gynura divaricata* (Linn.) DC. and *Hydrocotyle chinensis* (Dunn) Craib [J]. Guangxi Sciences, 2020, 27(4): 362-367.

物,长期食用能有效防治和控制高血压、高血脂及心脏病等现代常见疾病^[11]。

研究表明,黄酮类物质是一种重要的天然有机化合物,能清除生物体内自由基,具有良好的抗氧化作用,并且具有抑制酶活性、抗癌、抗菌、抗病毒、抗炎症、抗过敏、抗糖尿病并发症等功能,且无毒无害,对人类的肿瘤、衰老、心血管病等退变性疾病的治疗和预防有重要意义^[12-13]。相对于酶提取、微波提取、超临界萃取、酶解法等,超声波辅助醇溶液提取植物黄酮类物质试验操作简单快捷,成本低,并且能有效判断某一种物质总含量^[14]。为了解明月草和铜钱草是否与救心菜一样可推广开发成理想的食药兼用型保健菜,本研究采用超声波辅助醇溶液提取这3种特色蔬菜的总黄酮含量,并据此对其开发价值做出评价。

1 材料与方 法

1.1 原料与试剂

原料:救心菜、明月草、铜钱草供试品原材料于2019年10月采自广西植物研究所喀斯特药用植物园,林下人工种植一年后采集其新鲜嫩叶清洗干净后烘干、粉碎,过60目筛备用。

试剂:芦丁标准品(批号: MUST-12040302,中国药品生物制品检定所);蒸馏水;乙醇、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 NaNO_2 、 NaOH 均为分析纯试剂,购自桂林卓一生物有限公司。

1.2 仪器与设备

高速冷冻离心机,电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),TU-1901型双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),DL-720E智能超声波。

1.3 标准曲线的制作

用分析天平精密称取真空干燥至恒重的20 mg芦丁标准品,用无水乙醇溶解配制成0.4 mg/mL对照品溶液^[14]。分别取制备好的对照品溶液0.0,0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL及提取液1 mL,并分别置于25 mL容量瓶中,各加入50%乙醇至10 mL,各加入5%亚硝酸钠1 mL,混匀,放置6 min;各加10%硝酸铝溶液1 mL,混匀,放置6 min;分别加入4%氢氧化钠溶液10 mL,最后加入50%乙醇混匀,定容,得空白液、对照品溶液及样品供试液;放置15 min后分别在510 nm波长处测定其吸光值^[14-15]。以吸光值为纵坐标,总黄酮浓度为横坐标绘制回归曲线,回归方程为 $y=13.438x+0.0008$, $R^2=0.9998$ 。

1.4 提取工艺优化

1.4.1 超声波功率

准确称取样品粉末0.2 g,按料液比1:70(g:mL)加入40%乙醇14 mL,混匀后在低频(35 kHz)超声波频率及60,180,300,420,540 W超声波功率条件下,于60℃水浴中提取30 min,然后4 000 r/min离心5 min,过滤得上清液定容至50 mL,按照制备芦丁标准曲线步骤计算总黄酮含量,选取得率制高点为最佳提取功率。

1.4.2 提取温度

准确称取样品粉末0.2 g,按料液比1:70(g:mL)加入40%乙醇14 mL,混匀后在超声波功率为300 W,超声波频率为低频(35 kHz)条件下,分别在40,50,60,70,80℃水浴中提取30 min,然后4 000 r/min离心5 min,过滤得上清液定容至50 mL,按照制备芦丁标准曲线步骤计算总黄酮含量,选取得率制高点为最佳提取温度。

1.4.3 乙醇浓度

准确称取样品粉末0.2 g,按料液比1:70(g:mL)混匀后在超声波功率为300 W,超声波频率为低频(35 kHz)条件下,分别加入20%、40%、60%、80%、100%乙醇10 mL,然后在60℃水浴中提取30 min,4 000 r/min离心5 min,过滤得上清液定容至50 mL,按照制备芦丁标准曲线计算总黄酮含量,选取得率制高点为最佳乙醇提取浓度。

1.4.4 料液比

准确称取样品粉末0.2 g,分别按料液比1:50,1:60,1:70,1:80,1:90(g:mL)加入40%乙醇10,12,14,16,18 mL,混匀后在超声波功率为300 W,超声波频率为低频(35 kHz),60℃水浴中提取30 min,然后4 000 r/min离心5 min,过滤得上清液定容至50 mL,按照制备芦丁标准曲线步骤计算总黄酮含量,选得率制高点为最佳提取料液比。

1.4.5 提取时间

准确称取样品粉末0.2 g,按料液比1:70(g:mL)加入40%乙醇14 mL,混匀后在超声波功率为300 W,超声波频率为低频(35 kHz),60℃水浴中提取,其中救心菜提取时间梯度为30,50,70,90,110,130 min,明月草为110,130,150,170,190 min,铜钱草为30,50,70,90,110,130 min,然后4 000 r/min离心5 min,过滤得上清液定容至50 mL,按照制备芦丁标准曲线步骤计算总黄酮含量,选取得率制高点为最佳提取时间。

1.5 黄酮得率的计算方法

参照赵娟娟^[15]对分心木总黄酮的提取研究方法,计算总黄酮得率(R_E),其公式为

$$R_E = \frac{CV}{M} \times 100\%$$

式中, C 为提取液中总黄酮浓度(mg/mL), V 为提取液体积(mL), M 为样品粉末质量(g)。

在对上述提取工艺的选择中,优选各个单因素总黄酮得率最高点作为最终总黄酮提取方法,测定3种菜总黄酮含量。

1.6 3种蔬菜粗提液体外抗氧化活性

1.6.1 粗提液对 DPPH· 的清除作用

3种蔬菜叶片粗提液与 DPPH 溶液等体积混合,静置 30 min 后用无水乙醇作参比,在 517 nm 处测定其吸光值 A_1 ;测定不同产地的粗提液与无水乙醇等体积混合液的吸光值 A_2 ,DPPH 溶液与无水乙醇等体积混合液的吸光值 A_0 ,取 3 次平行试验结果根据下列公式计算试样对 DPPH· 的清除率^[15]。以 VC 作对照。

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times$$

100%。

1.6.2 总还原力的测定

取 1.0 mL 粗提液加入 1% 铁氰化钾溶液和 0.22 mol/L 磷酸盐缓冲液各 2.5 mL,混合均匀后于 50℃ 水浴中反应 30 min,迅速冷却加入 10% 三氯乙酸 2.5 mL,4 000 r/min 离心 10 min。最后取 2.5 mL 上清液加入 2.5 mL 蒸馏水和 2.5 mL 0.1% 三氯化铁溶液,混匀后静置 10 min,于 700 nm 处测定吸光值^[15]。以 VC 作对照。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 提取温度

由图 1 可知,3 种菜总黄酮得率随着提取温度的提高,其变化趋势并不明显,基本处于同一水平线。救心菜和铜钱草在 70℃ 得率最高,分别为 1.56% 和 2.57%,而明月草在 60℃ 达到最高点,为 0.63%。同一提取温度下,3 种菜的总黄酮得率表现为铜钱草 > 救心菜 > 明月草。

2.1.2 乙醇浓度

3 种菜总黄酮得率随着提取溶剂浓度的增大有

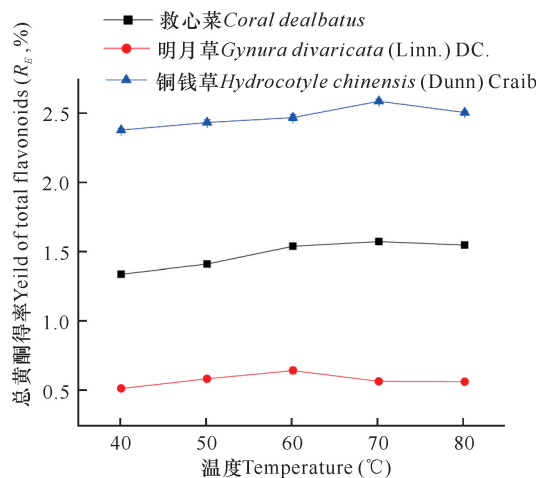


图 1 提取温度对 3 种菜总黄酮得率的影响

Fig. 1 Effect of extraction temperature on the yield of total flavonoids of three kinds of vegetables

不同程度的变化(图 2),其中铜钱草的变化程度最明显,呈现“凸”字形,以 60% 乙醇提取时总黄酮得率最高,为 2.56%,而救心菜和明月草以 80% 乙醇提取时总黄酮得率最高,在乙醇浓度 60% 以下,3 种菜总黄酮含量表现为铜钱草 > 救心菜 > 明月草,而超过 80% 之后,铜钱草总黄酮得率明显下降,开始低于救心菜。

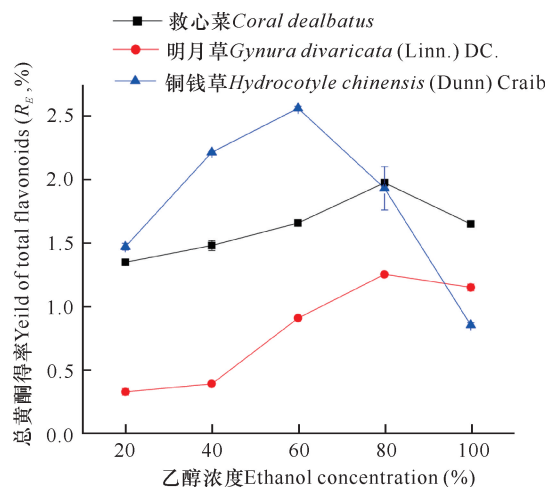


图 2 乙醇浓度对 3 种菜总黄酮得率的影响

Fig. 2 Effect of ethanol concentration on the yield of total flavonoids of three kinds of vegetables

2.1.3 料液比

由图 3 可知,3 种菜总黄酮得率随着提取溶剂的增多,其得率也呈现不同变化。其中铜钱草和明月草受提取液体积的影响比较大,但都在 1:70 时得率最高,分别为 2.41% 和 0.85%。而救心菜的总黄酮得率基本不受提取液的影响。

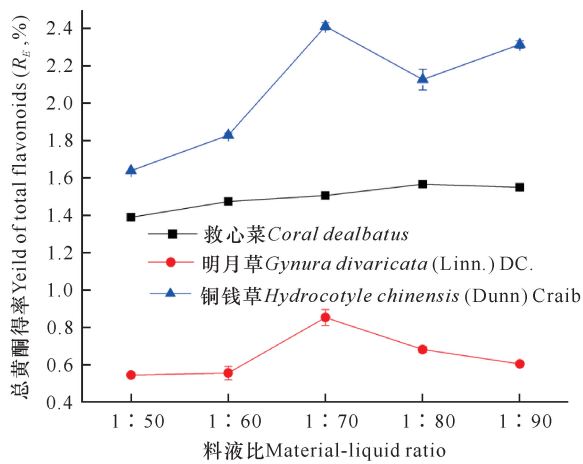


图3 料液比对3种菜总黄酮得率的影响

Fig. 3 Effect of material-liquid ratio on the yield of total flavonoids of three kinds of vegetables

2.1.4 超声功率

3种菜总黄酮的提取受到超声功率的影响不大(图4),随着超声功率的增大,其黄酮得率变化都不大,整体表现为铜钱草>救心菜>明月草。

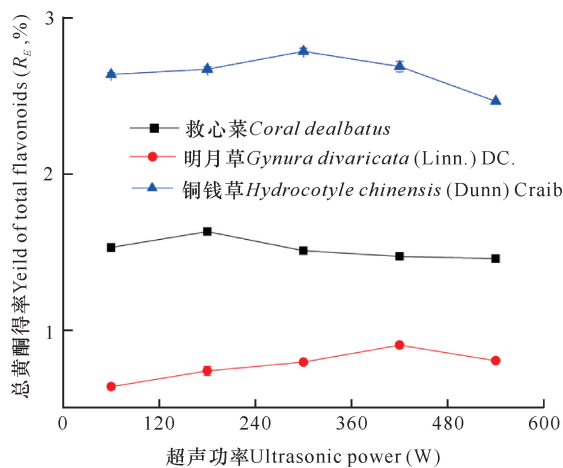


图4 超声功率对3种菜总黄酮得率的影响

Fig. 4 Effect of ultrasonic power on the yield of total flavonoids of three kinds of vegetables

2.1.5 提取时间

由图5可知,提取时间对3种菜总黄酮得率影响很大,铜钱草和救心菜在较短时间内便有黄酮析出,而明月草所需时间较长,约需120min以上,而铜钱草总黄酮得率随时间的延长在30—50min内有个明显增幅,于60min趋向稳定。

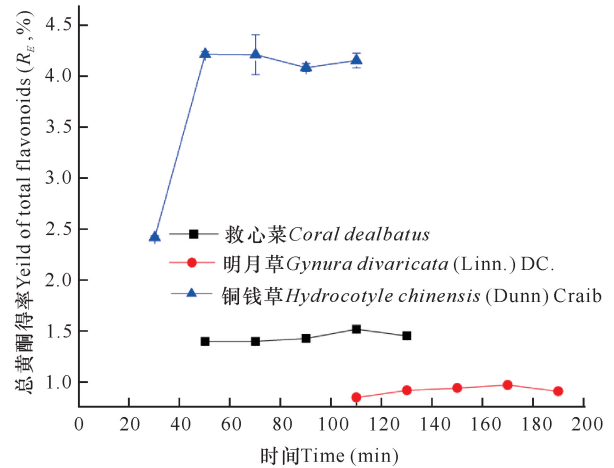


图5 提取时间对3种菜总黄酮得率的影响

Fig. 5 Effect of extraction time on the yield of total flavonoids of three kinds of vegetables

2.2 3种菜总黄酮含量比较

在70℃、超声功率180W、乙醇浓80%和料液比1:80g/mL条件下提取110min,救心菜总黄酮含量为2.14%;在60℃、超声功率180W、乙醇浓80%和料液比1:80g/mL条件下提取170min,明月草总黄酮含量为1.27%;在70℃、超声功率300W、乙醇浓度60%和料液比1:70g/mL下,铜钱草总黄酮含量为5.37%,铜钱草总黄酮含量最高(图6)。

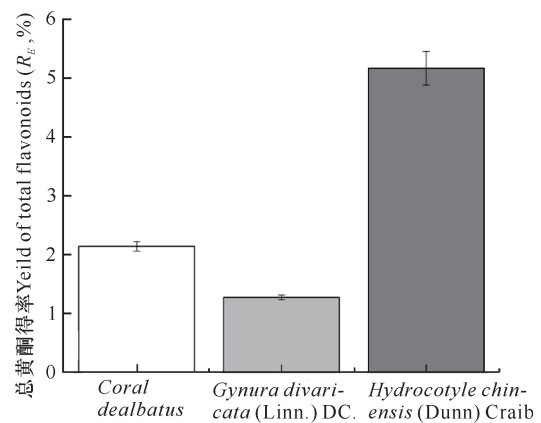


图6 3种菜总黄酮含量对比

Fig. 6 Comparison of total flavonoid content of three kinds of vegetables

2.3 3种菜的抗氧化活性比较

由图7a可知,救心菜、明月草、铜钱草粗提液对DPPH·的清除能力以救心菜最高,约为93.46%,而明月草和铜钱草对DPPH·的清除能力最高约为87.03%和87.20%,比VC(95.94%)低。随着加样体积的增加,明月草对DPPH·的清除能力显著提升,而救心菜和铜钱草无显著变化。总还原力比较结

果为 VC>救心菜>铜钱草>明月草, VC 随着加样体积的增加其吸光值有明显增幅, 而 3 种菜无明显变化。

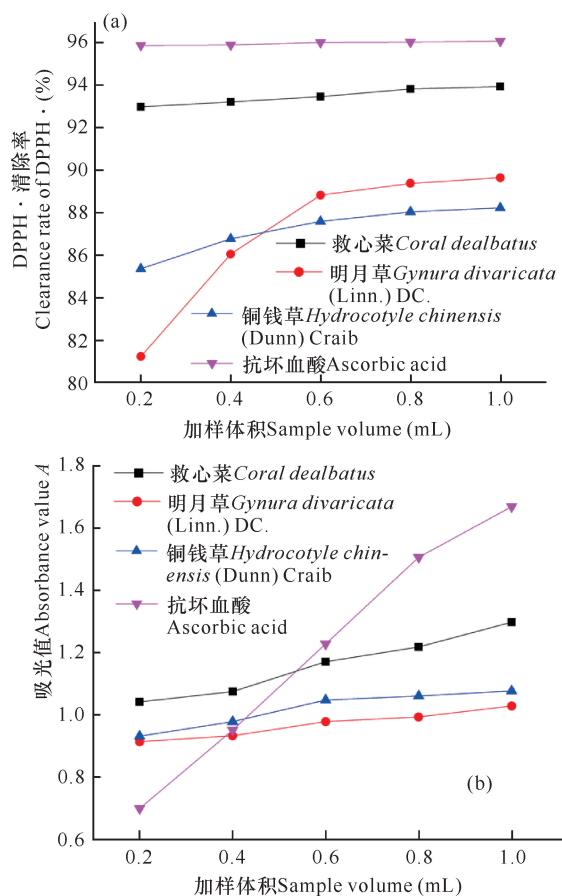


图 7 3 种菜抗氧化活性对比

Fig. 7 Comparison of antioxidant activity of three kinds of vegetables

3 讨论

本研究通过超声波辅助醇溶液提取救心菜、明月草和铜钱草的总黄酮, 发现 3 种蔬菜的提取条件各有不同。其中随着提取溶剂乙醇浓度的增加, 其总黄酮得率变化也很显著, 过高浓度乙醇或可将其他醇溶性物质析出, 影响总黄酮提取; 随着提取溶剂的增多, 总黄酮得率并没有相应增加, 所以在提取工艺中要注意合理利用溶剂, 避免浪费。此外 3 种蔬菜对于总黄酮的最优提取时间也不尽相同, 可能是因为各试材本质的差异, 对于物质的析出所需条件不同。

试验结果表明救心菜、明月草和铜钱草总黄酮类物质含量分别为 2.14%、1.27% 和 5.37%, 以铜钱草总黄酮含量最高, 但是抗氧化活性研究结果发现, 其总还原力表现为 VC>救心菜>铜钱草>明月草, 这可能是由于其他活性物质如多酚、多糖、皂苷等也参

与了 DPPH· 自由基和 Fe^{3+} 的还原, 有待于对其主要活性物质进行更广泛和深入的对比分析。

临床试验表明, 食用救心菜数月可抑制和改善高血压和心脏病等心脑血管疾病, 有宁心平肝、安神补血、清热解毒等功效, 在推广种植方面的优势更好, 其对种植土壤条件要求不高, 具有耐旱、耐寒、耐阴、耐湿和耐瘠薄等特性, 适应性强, 且能够进行分株和扦插繁殖, 存活率高, 定植一次就能够连续多年收获新鲜茎叶, 具有极大的市场价值^[16-17]。明月草可治疗急性结膜炎、小儿高热、心肺积热等, 也有清热解毒、凉血止血等功效, 对于种植土壤条件要求不严, 但是气候环境对于其扦插的成活率影响较大, 一般选择在春季进行扦插繁殖^[18-19]。铜钱草可清热、镇痛、利湿、治腹痛、小便不利等, 一般生长在湿润的路旁、草地、河沟边、湖滩、溪谷及山地等潮湿的环境, 人工繁殖和野生繁殖^[20]。

总的来说, 救心菜在推广种植、市场开发方面的优势更好, 总黄酮含量也相对较高, 是药食兼用的理想保健品。而明月草和铜钱草总黄酮含量虽高, 但是其抗氧化活性并不好, 在推广和栽培方面也相对较差, 因此开发成为药食兼用的理想保健品的价值相对较低。

参考文献

- [1] 石细敏, 李星, 朱建强, 等. 救心菜周年栽培技术分析[J]. 南方农业, 2015, 9(27): 49, 51.
- [2] 李英梅, 杨平, 陈志杰, 等. 救心菜扦插繁殖栽培技术研究[J]. 陕西农业科学, 2018, 64(12): 56-58.
- [3] 杨莹. 救心菜采后保鲜与贮藏品质变化[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2018.
- [4] 杨莹, 韩延超, 吴伟杰, 等. 肉桂精油对救心菜贮藏品质的影响[J]. 核农学报, 2019, 33(12): 2376-2383.
- [5] 李玲, 陶亮, 赵存朝, 等. 云南明月草营养成分分析[J]. 农产品加工, 2019(1): 55-57.
- [6] 徐荣, 袁志章, 张雪辉, 等. 明月草对糖尿病小鼠的降血糖作用[J]. 热带农业科技, 2013, 36(2): 31-33.
- [7] 尹慧丹. 明月草叶查尔酮提取纯化工艺及抗氧化性研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2012.
- [8] 尹伟, 林腾, 张国升. 响应面法优化超声辅助提取明月草中总黄酮工艺研究[J]. 长江大学学报: 自然科学版, 2019, 16(1): 112-117.
- [9] 蒋益花. 破铜钱总黄酮的提取工艺研究[J]. 生物质化学工程, 2007, 41(2): 38-40.
- [10] 李江, 林军, 黄忠仕, 等. 天胡荽与破铜钱中总黄酮的含量测定[J]. 广西医科大学学报, 2004, 21(4): 491-492.

- [11] 建强,石细敏,龙凯珍,等.四种药食两用蔬菜的食用价值和经济效益分析[J].南方农业,2015,9(30):28-29.
- [12] 王利民,何春梅,刘彩玲,等.鼠曲草属植物的活性成分及其功效研究进展[J].江西农业学报,2019,31(10):63-69.
- [13] 曾晓漫,贺晓云.昆仑雪菊的化学成分与功效研究进展[J].食品工业科技,2019,40(13):335-339.
- [14] 史艳财,邹蓉,韦记青,等.黄花倒水莲总黄酮提取工艺研究[J].北方园艺,2014(12):134-137.
- [15] 赵娟娟.分心木黄酮超声-微波协同提取及抗氧化性研究[J].食品研究与开发,2018,39(18):70-76.
- [16] 马炳清,汪宗仁,蒋欣梅,等.寒地救心菜高产栽培技术[J].现代园艺,2015(6):51-52.
- [17] 高朝斌,谢小莉.保健野菜救心菜的特征特性及栽培技术[J].农业科技通讯,2005(11):39.
- [18] 袁志章,杨焱.明月草扦插繁殖试验[J].热带农业科技,2015,38(2):33-34,40.
- [19] 陈奎礼,陈舜权,赵俊杰,等.南京地区明月草水培扦插繁殖管理技术[J].长江蔬菜,2015(7):33-35.
- [20] 杨英.新时期下铜钱草养殖技术探析[J].农民致富之友,2018(8):103.

Determination and Evaluation of Total Flavonoids Content in *Coral dealbatus*, *Gynura divaricata* (Linn.) DC. and *Hydrocotyle chinensis* (Dunn) Craib

ZHU Chenghao¹, NING Guanquan², CAO Qiyi², TANG Jianmin¹, ZOU Rong¹, WEI Xiao¹, WEI Jiqing¹

(1. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China; 2. College of Agriculture and Food Engineering, Baise University, Baise, Guangxi, 533000, China)

Abstract: *Coral dealbatus*, *Gynura divaricata* (Linn.) DC. and *Hydrocotyle chinensis* (Dunn) Craib are characteristic vegetables which can be used as medicine and food, in order to explore the development value of them, ultrasonic-assisted alcohol solution method was used to extract the total flavonoid content of the three vegetables, and the antioxidant capacity of the crude extract was evaluated. The results showed that the highest flavonoids content of *C. dealbatus*, *G. divaricata* (Linn.) DC. and *H. chinensis* (Dunn) Craib were 2.14%, 1.27% and 5.37%, respectively under the optimal extraction conditions. The content of total flavonoids in *H. chinensis* (Dunn) Craib was the highest. The results of the antioxidant activity study showed that among the three vegetables, the crude extracts of *C. dealbatus* had the highest scavenging ability on DPPH·, and the total reducing power was VC > *C. dealbatus* > *H. chinensis* (Dunn) Craib > *G. divaricata* (Linn.) DC.. *Coral dealbatus* had better advantages in popularizing planting and market development, and its total flavonoids content was relatively high. It was an ideal health care product for both medicine and food. Although the content of total flavonoids in the *G. divaricata* (Linn.) DC. and the *H. chinensis* (Dunn) Craib was high, their antioxidant activity was not good, and the value of developing them as ideal health products for both medicine and food was relatively low.

Key words: *Coral dealbatus*, *Gynura divaricata* (Linn.) DC., *Hydrocotyle chinensis* (Dunn) Craib, total flavonoids, antioxidant activity