

不同提取方法对马齿苋水提物自由基清除和抗菌活性影响的研究

徐琳 (山西省农业科学院农产品加工研究所, 太原山西 030031)

摘要 [目的]比较分析了常规水提法和超声法2种方法获得的马齿苋水提物对自由基清除和抗菌活性影响。[方法]分别通过常规水提法和超声法获得了马齿苋水提物,然后将不同浓度的马齿苋水提物加入到反应液中,分别测试了它们的清除氧自由基、 OH^- 自由基、DPPH 自由基的活性,并分析比较了它们的抗菌活性。[结果]马齿苋水提物能够显著地清除上述3种自由基,同时对测试的5种菌(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母和黑曲霉)的生长均有一定的抑制作用;其中,超声法获得的马齿苋水提物在各测试浓度点的抗氧化抗菌活性均较常规水提法获得的马齿苋水提物强。[结论]超声法获得的马齿苋水提物具有较强的抗氧化抗菌活性。

关键词 马齿苋水提物;常规水提法;超声法;自由基清除;抗菌活性

中图分类号 S567.21*9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)27-053-02

Research on the Effect of Different Extraction Methods on Radicals Scavenging and Anti-microorganism Activities of the Aqueous Extract of *Portulaca oleracea*

XU Lin (Institute of Agricultural Products Processing, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan, Shanxi 030031)

Abstract [Objective] The research aimed to compare and analyse the radicals scavenging and anti-microorganism activities of the aqueous extract of *Portulaca oleracea* from two extraction methods (conventional water extraction method and ultrasonic extraction method). [Method] Both conventional water extraction method and ultrasonic extraction method were used for obtaining the aqueous extract of *Portulaca oleracea*. Then, the different contents of the aqueous extract of *Portulaca oleracea* were added into reaction liquid, respectively. The radicals scavenging activity including O_2^- , OH^- and DPPH were tested. In addition, their anti-microorganism activities were also compared and analysed. [Result] The aqueous extract of *Portulaca oleracea* from two extraction ways could all obviously scavenge the O_2^- , OH^- and DPPH radicals and inhibit the tested microorganism growth (bacterium coli, staphylococcus aureus, bacillus subtilis, saccharomyces cerevisiae, aspergillus niger). Moreover, the aqueous extract of *Portulaca oleracea* from ultrasonic extraction method displayed the stronger antioxidant and anti-microorganism activities at the every tested content points than that from conventional water extraction method. [Conclusion] The aqueous extract of *Portulaca oleracea* from ultrasonic extraction method displayed the stronger antioxidant and anti-microorganism activities.

Key words The aqueous extract of *Portulaca oleracea*; Conventional water extraction method; Ultrasonic extraction method; Radicals scavenging; Anti-microorganism activities

马齿苋(*Portulaca oleracea* L.)为马齿苋科植物的全草,又名长寿菜、蚂蚁菜、瓜子菜等,性寒味酸,具有清热解毒、散热消肿之功效^[1]。明代《本草纲目》等古医书记载,马齿苋具有清热解毒、散血消肿、治痢之功效。现代药理研究表明,马齿苋具有提高人体免疫力、降血糖、抗癌、防治心脏病、抗菌、降血脂、抗衰老、抗氧化等作用^[2-3],这些功效与其含有多糖、生物碱、黄酮类、萜类、有机酸、多酚和萜醌苷等生物活性成分有关^[4]。不同提取方法对马齿苋水提物中的各功能成分影响很大。各功能成分的差异是否对提取物的生化活性造成影响,这是一个很有价值的研究思路。有关马齿苋水提物抗氧化抗菌的研究已有前人报道,该试验对常规法提取的马齿苋水提物和超声法提取的马齿苋水提物的抗氧化抗菌活性进行测定,并进行对比分析,以便揭示不同提取方法对马齿苋水提物抗氧化抗菌活性的影响效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试材。马齿苋为夏季在太原市郊采集,洗净、切碎,于60℃烘干,备用。所用化学试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器。SN-CJ-1F型单人双面净化工作台(苏州净化设备有限公司);MGC-250BP-2型培养箱(上海一恒科技有限公司);索氏提取器(杭州聚同电子有限公司);ACQ-600超声波发生器(陕西翔达超声技术工程部);722光栅分光光度

计(上海第三分析仪器厂)。

1.2 试验方法

1.2.1 常规法马齿苋提取物的制备。称取干马齿苋100g,用双蒸水、1:10料液比于100℃下提取2h,过滤,滤渣同上再提取一次,合并滤液。将所得滤液浓缩干燥,得到马齿苋水提取物。

1.2.2 超声法马齿苋提取物的制备。称取干马齿苋100g,用双蒸水、1:10料液比于100℃下在超声萃取器中(400W)提取1h,过滤,滤渣同上再提取一次,合并滤液。将所得滤液浓缩干燥,得到马齿苋水提取物。

1.2.3 清除 O_2^- 作用。采用黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶-鲁米诺产生 O_2^- 自由基的发光体系。测定原理是黄嘌呤氧化酶在有氧条件下,催化底物黄嘌呤氧化生成尿酸,同时产生 O_2^- 。 O_2^- 可与化学发光剂鲁米诺反应,并伴随化学发光。加入自由基清除剂可以清除 O_2^- ,从而抑制鲁米诺的化学发光,通过测定化学发光强度,可得知 O_2^- 的清除率。具体操作如下:发光杯中依次加入pH 9.4、0.1 mol/L碳酸钠缓冲液680 μl ,1 mmol/L鲁米诺50 μl ,1 mmol/L黄嘌呤200 μl ,以及样品液50 μl ,最后加入0.1 U/ml黄嘌呤氧化酶20 μl 启动反应,立即开始记录10 s积分发光强度(CP 10s)。测定重复3次。

1.2.4 对羟自由基 OH^- 清除能力的测定。在10 ml比色管中,依次加入6 mmol/L的 FeSO_4 1.00 ml、6 mmol/L的水杨酸1.00 ml,再加入6 mmol/L的 H_2O_2 1.00 ml,摇匀,1 min后测定其吸光度为 A_0 ,测定后将不同浓度的马齿苋提取液1.00 ml加入比色管中,加蒸馏水至10 ml,摇匀,放置10 min再测

定其吸光度为 A_{510} 。清除率 (%) = $(A_0 - A_x) \div A_0 \times 100\%$ ，式中， A_x 为加入提取液后的吸光度， A_0 为空白对照吸光度。

1.2.5 清除 DPPH 自由基能力。参考文献[5]，分析马齿苋水提取物清除 DPPH 自由基的能力。DPPH 用无水乙醇配制浓度为 2×10^{-4} mol/L 的溶液备用。反应总体积为 5 ml，在试管中加入 4 ml DPPH 溶液，然后分别加入 1 ml 不同浓度的马齿苋水提取物溶液，充分混合，在室温下静止 1 h，使用分光光度计在 517 nm 波长处测定各吸光度。以无水乙醇为空白调零，每一吸光度平行测 3 次，取平均值按以下公式计算清除率：清除率 (%) = $(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}) \times 100\%$ ，式中， A_i 为加入马齿苋水提取物后的 DPPH 溶液的吸光度， A_j 为 DPPH 的溶剂和马齿苋水提取物混合后的溶液的吸光度， A_0 为未加马齿苋水提取物的 DPPH 溶液的吸光度。

1.2.6 抑菌试验。用打孔器打孔，制备直径 6 mm 的圆形滤纸片，121 °C 灭菌 20 min 冷却后，均匀沾取马齿苋水提取物，平铺于均匀涂布有对数生长期的受试菌（细菌）、酵母和霉菌孢子，受试细菌和真菌分别于 37 °C 培养 24 h，30 °C 培养 48 h 后，观察并测定滤纸片周围的抑菌圈直径。

2 结果与分析

2.1 马齿苋水提取物对 O_2^- 自由基的清除 O_2^- 自由基是自由基的一种，对它的清除具有重要的意义[6]。由图 1 可知，常规法提取的马齿苋水提取物对 O_2^- 自由基的清除能力随浓度的增加而增加，当马齿苋水提取物浓度是 4 mg/ml 时，它对 O_2^- 自由基的清除能力为 5.35%，当马齿苋水提取物浓度是 16 mg/ml 时，它对 O_2^- 自由基的清除能力为 47.99%。另外，由超声法提取的马齿苋水提取物对 O_2^- 自由基的清除率也是随着提取物浓度的增加而增大（5.84% ~ 60.96%）；在各测试浓度点，相应的 O_2^- 自由基的清除率均比常规水提法提取的马齿苋水提取物高。

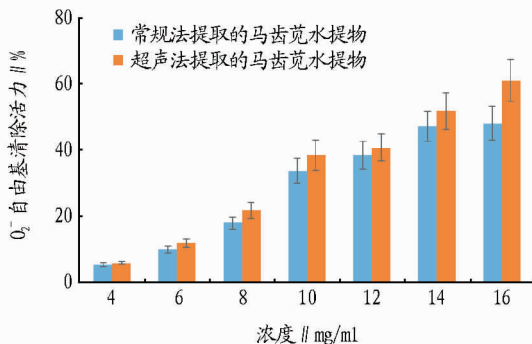


图 1 常规法和超声法提取的马齿苋水提取物对 O_2^- 自由基的清除

2.2 马齿苋水提取物对 OH^- 自由基的清除 OH^- 自由基是一种重要的活性氧，过量的 OH^- 自由基能够氧化细胞膜中不饱和脂肪酸引起脂质过氧化、交联、聚合成脂褐素，造成器官功能损害[7]。因此清除 OH^- 自由基对机体健康是很有意义的。由图 2 可知，常规法提取的马齿苋水提取物对 OH^- 自由基的清除能力随浓度的增加而增加，当马齿苋水提取物浓度是 4 mg/ml 时，它对 OH^- 自由基的清除能力为 4.22%，当马齿

苋水提取物浓度是 16 mg/ml 时，它对 OH^- 自由基的清除能力为 77.41%。另外，由超声法提取的马齿苋水提取物对 OH^- 自由基的清除率也是随着提取物浓度的增加而增大（4.98% ~ 82.42%）；在各测试浓度点，相应的 OH^- 自由基的清除率均比常规水提法提取的马齿苋水提取物高。

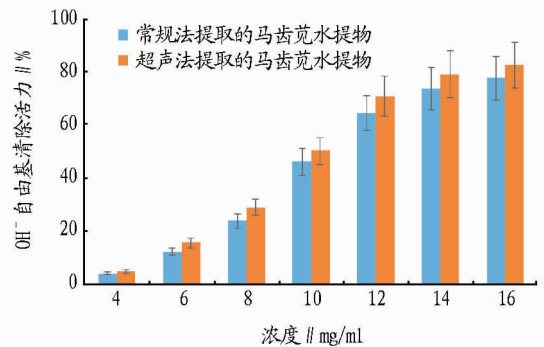


图 2 常规法和超声法提取的马齿苋水提取物对 OH^- 自由基的清除

2.3 马齿苋水提取物对 DPPH 自由基的清除 对 DPPH 自由基的清除活力是能反映测试样品的抗氧化效果的重要指标之一[8]。由图 3 可知，常规法提取的马齿苋水提取物对 DPPH 自由基的清除率随着提取物浓度的增加而增大，量效关系非常显著；当马齿苋水提取物浓度从 4 mg/ml 增加至 16 mg/ml 时，它对 DPPH 自由基的清除率从 3.29% 增加至 54.44%。另外，由超声法提取的马齿苋水提取物对 DPPH 自由基的清除率也是随着提取物浓度的增加而增大（4.15% ~ 58.42%）；在各测试浓度点，相应的 DPPH 自由基的清除率均比常规水提法提取的马齿苋水提取物高。不同提取方法对马齿苋提取物中所含有的黄酮、酚类、多糖等抗氧化功能活性物质的含量组成均有影响[9]。该试验表明超声法提取的马齿苋水提取物对 DPPH 自由基有着较强的清除能力，这可能与超声法提取的马齿苋水提取物含有较高浓度的黄酮、酚类物质有关。

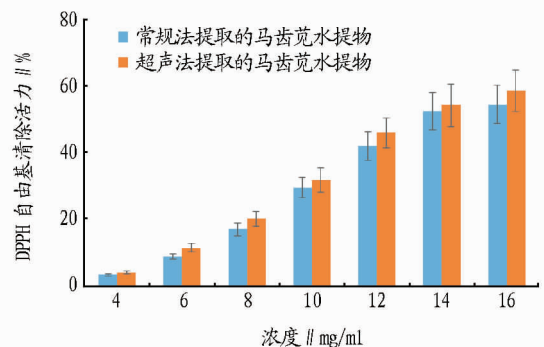


图 3 常规法和超声法提取的马齿苋水提取物对 DPPH 自由基的清除

2.4 马齿苋水提取物对微生物生长的抑制 从表 1 可知，常规法提取的马齿苋水提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母和黑曲霉的生长均有一定的抑制作用，且抑制作用随马齿苋水提取物浓度的增加而增加；在 5 种测试菌中，马齿苋水提取物对黑曲霉的抑制作用最强，马齿苋水提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的抑制作用次之，对酿酒酵母生长的抑制作用最弱。另外，超声法

(下转第 66 页)

造成分蘖率有所下降。种植密度高的处理虽然降低了甘蔗的分蘖率,但因增加了甘蔗的下种量,产生的主茎就多,因此使得其有效茎数随种植密度的增加而有所提高,这与刘红坚等^[9]的研究结果相符。此外,由于有效茎数是构成甘蔗产量的主要因子,与蔗茎产量呈正相关,在该试验中桂糖 32 号的蔗茎产量随其种植密度的增加也呈增产的趋势。与 7.5 万芽/hm² 种植密度相比,9.0 万、10.5 万芽/hm² 种植密度下的蔗茎产量虽有所增产但增产不明显,仅增产 3.99、4.47 t/hm²,而在 12.0 万芽/hm² 和 13.5 万芽/hm² 种植密度下桂糖 32 号增产效果较为明显,分别增产 7.63、12.01 t/hm²。因此对于桂糖 32 号来说,增加其种量可以起到增产的目的,且在 12.0 万芽/hm² 和 13.5 万芽/hm² 种植密度下增产较为显著。

(3) 甘蔗的含糖量与甘蔗的蔗糖分、蔗茎产量有关。该试验在不同的种植密度下桂糖 32 号的平均蔗糖分差别不是很大,但由于各密度下蔗茎产量的差别使得其含糖量亦有所不同。种植密度对桂糖 32 号含糖量的影响与对蔗茎产量的影响效果相似,即随种植密度的增加其含糖量亦有所增加。与 7.5 万芽/hm² 种植密度相比,9.0 万、10.5 万芽/hm² 种植密度下的含糖量虽有所增加但增加不明显,仅增糖 0.23、0.74 t/hm²,而在 12.0 万芽/hm² 和 13.5 万芽/hm² 种植密度下桂糖 32 号增糖效果较为明显,分别增糖 1.57、1.75 t/hm²。由此可见,增加桂糖 32 号的种植密度可以起到增糖的效果,

(上接第 54 页)

提取的马齿苋水提物在各设定测试浓度点,对上述 5 种菌的抑制活力均比常规法提取的马齿苋水提物的效果强,且表现出明显的量效抑制作用。

表 1 常规法和超声法提取的马齿苋水提物的抗菌活力

菌	提取方法	抑菌圈直径//cm		
		5 mg/ml	15 mg/ml	25 mg/ml
大肠杆菌	常规法	0.84 ± 0.09	1.53 ± 0.14	1.77 ± 0.19
	超声法	0.89 ± 0.09	1.72 ± 0.16	1.80 ± 0.19
金黄色葡萄球菌	常规法	0.57 ± 0.06	0.85 ± 0.13	1.29 ± 0.21
	超声法	0.61 ± 0.07	0.88 ± 0.08	1.32 ± 0.15
枯草芽孢杆菌	常规法	0.60 ± 0.02	0.85 ± 0.07	1.38 ± 0.08
	超声法	0.63 ± 0.07	0.86 ± 0.09	1.46 ± 0.13
酿酒酵母	常规法	0.39 ± 0.04	0.57 ± 0.05	0.68 ± 0.08
	超声法	0.41 ± 0.05	0.63 ± 0.07	0.71 ± 0.08
黑曲霉	常规法	1.15 ± 0.16	1.77 ± 0.16	2.29 ± 0.24
	超声法	1.21 ± 0.11	1.82 ± 0.15	2.33 ± 0.22

3 结论

以上试验结果表明,马齿苋水提物具有清除超氧阴离子自由基、羟自由基和 DPPH 自由基的能力,其中,对羟自由基的清除能力最强,对超氧阴离子自由基和 DPPH 自由基清除能力略弱;不同提取法对马齿苋水提物的抗氧化活力均有影响,其中超声法提取的马齿苋水提物的自由基清除能力较常规法提取的马齿苋水提物略强。另外,试验也表明超声法提取的马齿苋水提物的抗菌能力较常规法提取的马齿苋水提

在 12.0 万芽/hm² 和 13.5 万芽/hm² 种植密度下增糖效果较为显著。

(4) 综上所述,增加桂糖 32 号的种植密度可以达到增产增糖的目的,在河池蔗区桂糖 32 号适宜的种植密度在 12.0 万 ~ 13.5 万芽/hm²,最佳的种植密度在 13.5 万芽/hm² 左右,在此密度下可获得较高的蔗茎产量和含糖量。

参考文献

- [1] 唐珩. 做大做强河池蔗糖产业的思考[C]// 韦茂才. 桂西资源开发新思路: “广西加快桂西资源富集区开发与建设” 理论研讨会. 南宁: 广西人民出版社, 2011: 94 - 97.
- [2] 杨翠芳, 段维兴, 张革民, 等. 2013 年南宁、河池蔗区甘蔗生产情况调查[J]. 广西蔗糖, 2013, 72(3): 38 - 46.
- [3] 段维兴, 王泽平, 刘要鑫, 等. 2012 年南宁、河池蔗区甘蔗生产情况调查[J]. 中国糖业, 2013(2): 48 - 51, 53.
- [4] 韦贵剑, 杨柳恋, 梁景文, 等. 桂糖 29 号在河池蔗区的种植表现[J]. 南方农业学报, 2013, 44(10): 1634 - 1637.
- [5] 黎焕光, 谭裕模, 谭芳, 等. 甘蔗新品种桂糖 32 号的种性分析[J]. 作物杂志, 2011(4): 129 - 130.
- [6] 吴建涛, 刘福业, 杨俊贤, 等. 粤糖系列甘蔗品种产量因子间相关和通径分析[J]. 中国农学通报, 2012, 28(12): 66 - 71.
- [7] 裴铁雄, 陈永, 黄培强, 等. 甘蔗新品种的不同种植密度试验研究[J]. 中国糖料, 2014(4): 6 - 10.
- [8] 陈玉水, 张树河, 吴水金. 合理密植是甘蔗增产的技术关键[J]. 中国糖料, 2008(1): 55 - 56.
- [9] 刘红坚, 李松, 游建华, 等. 不同种植密度对甘蔗品种桂 98 - 296 农艺性状及产量的影响[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(22): 7327 - 7328.
- [10] 陆建勋, 邓展云, 刘晓静, 等. 不同种植密度对桂糖系列甘蔗品种农艺性状及产量的影响[J]. 广西农业科学, 2010, 41(11): 1170 - 1172.
- [11] 段维兴, 刘许辉, 杨海霞, 等. 施肥量与种植密度对桂糖 29 号产量及构成因素的影响[J]. 南方农业学报, 2012, 43(8): 1145 - 1148.

物略强。这可能与不同提取法对马齿苋水提物中的功效成分含量差异的影响有关。

参考文献

- [1] GU J F, ZHENG Z Y, YUAN J R, et al. Comparison on hypoglycemic and antioxidant activities of the fresh and dried *Portulaca oleracea* L. in insulin-resistant HepG2 cells and streptozotocin-induced C57BL/6J diabetic mice[J]. Journal of ethnopharmacology, 2015, 161: 214 - 223.
- [2] YE M, SUN M M, HU F, et al. Remediation of organochlorine pesticides (OCPs) contaminated site by successive methyl-β-cyclodextrin (MCD) and sunflower oil enhanced soil washing-*Portulaca oleracea* L. cultivation[J]. Chemosphere, 2014, 105: 119 - 125.
- [3] LIANG X, TIAN J L, LI L Z, et al. Rapid determination of eight bioactive alkaloids in *Portulaca oleracea* L. by the optimal microwave extraction combined with positive-negative conversion multiple reaction monitor (+/-MRM) technology[J]. Talanta, 2014, 120: 167 - 172.
- [4] WANG W Y, DONG L W, JIA L, et al. Ethanol extract of *Portulaca oleracea* L. protects against hypoxia-induced neuro damage through modulating endogenous erythropoietin expression[J]. The journal of nutritional biochemistry, 2012, 23(4): 385 - 391.
- [5] 宋小锋, 原增艳, 许平辉. 金银花活性成分提取及其抗氧化和抑菌功效研究[J]. 日用化学工业, 2012, 42(2): 123 - 125.
- [6] THARIAT J, COLLIN F, MARCHETTI C, et al. Marked difference in cytochrome c oxidation mediated by HO· and/or O₂·- free radicals in vitro[J]. Biochimie, 2008, 90(10): 1442 - 1451.
- [7] WANG B C, QIAN J Z, FAN Y, et al. The QSAR study of flavonoid-metal complexes scavenging radical dotOH free radical[J]. Journal of molecular structure, 2014, 1075: 204 - 212.
- [8] LAGUERRE M, HUGOUIEUX V, CAVUSOGLU N, et al. Probing the micellar solubilisation and inter-micellar exchange of polyphenols using the DPPH radical dot free radical[J]. Food chemistry, 2014, 149: 114 - 120.
- [9] ERKAN N. Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L. [J]. Food chemistry, 2012, 133(3): 775 - 781.