

比色法测定不同产地马齿苋中总多酚

焦泽沼¹, 刘佃雨^{1,2}, 王培培¹, 向 兰^{1*}

1. 山东大学 药学院, 山东 济南 250012

2. 成都市血液中心, 四川 成都 610041

摘要: **目的** 建立马齿苋药材中总多酚的测定方法, 考察不同产地马齿苋药材中总多酚, 为马齿苋药材质量评价提供参考。**方法** 以没食子酸为对照品, 采用福林酚(FC)比色法测定马齿苋中总多酚。**结果** 不同产地的马齿苋药材中多酚含量在6.30~17.37 mg/g。**结论** FC比色法简单快速, 稳定, 结果准确, 适用于马齿苋中总多酚的测定; 不同产地马齿苋中总多酚差异较大, 建议马齿苋药材中总多酚质量分数以没食子酸计不低于6 mg/g。

关键词: 马齿苋; 多酚; 福林酚比色法; 质量评价

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)07-0745-04

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2014.07.011

Determination of total polyphenols in *Portulaca oleracea* from various habitats by colorimetric method

JIAO Ze-zhao¹, LIU Dian-yu^{1,2}, WANG Pei-pei¹, XIANG Lan¹

1. School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China

2. Chengdu Blood Center, Chengdu 610041, China

Abstract: **Objective** To establish a method for determination of total polyphenols in *Portulaca oleracea*, to investigate the total polyphenols in this herb from various habitats, and to provide reference for quality evaluation of *P. oleracea*. **Methods** The total polyphenols content in *P. oleracea* was determined by Folin-Ciocalteu (FC) colorimetric method with gallic acid as the standard. **Results** The total polyphenols of 11 batches of *P. oleracea* varied from 6.30 to 17.37 mg/g. **Conclusion** FC colorimetric method is a quick, easy-operating, precise, and stable method, which is suitable for the determination of total polyphenols in *P. oleracea*. In consideration of big differences of total polyphenols among *P. oleracea* from various habitats, it is suggested that the total polyphenols in *P. oleracea* crude drug should be above 6 mg/g.

Key words: *Portulaca oleracea* L.; polyphenols; Folin-Ciocalteu colorimetry; quality evaluation

马齿苋 *Portulaca oleracea* L. 为马齿苋科马齿苋属植物, 又名长寿菜, 是我国传统的药食两用植物, 具有清热解毒、凉血止血的功能^[1]。《中国药典》2010年版一部关于马齿苋药材的质量标准只规定了性状鉴别、理化鉴别、显微鉴别、薄层鉴别和水分检查项, 未见马齿苋药材中有效成分的测定项^[1]。马齿苋中化学成分类型众多, 除有机酸、萜类、甾体、多糖外, 还含有黄酮、香豆素、酚酸、酚性生物碱等酚类成分^[2]。多酚作为马齿苋中有效部位之一,

具有清除自由基、抗脂质过氧化和神经保护等作用^[3]。福林酚(Folin-Ciocalteu, FC)比色法由于显色明显、误差小、稳定性高等优点^[4], 已应用于多种药材和水果中的多酚的测定^[5-8]。本实验通过优化FC法反应条件, 建立了马齿苋中多酚的测定方法, 并对不同产地的马齿苋药材中多酚进行了比较, 旨在为马齿苋药材的质量评价提供参考。

1 仪器与试剂

TU—1800 紫外分光光度仪(北京普析通用公

收稿日期: 2014-04-08

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81073005); 山东大学自主创新项目(2012TS102)

作者简介: 焦泽沼(1989—), 男, 河北衡水人, 硕士研究生, 主要从事中药活性成分及质量控制研究。E-mail: jiao2008dream@163.com

*通信作者 向 兰, 山东大学药学院生药学研究所教授。Tel: (0531) 88382028 E-mail: xianglan02@sdu.edu.cn

司), BL—100 型高速多功能粉碎机(浙江省永康市松青五金工具厂), 85—2 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司), KQ5200 型超声波清洗器(昆山市仪器厂), AY—120 分析天平(日本岛津), YP402N 普通电子天平(上海仪器厂)。

FC 试剂购自上海荔达生物科技有限公司; 没食子酸对照品购自中国食品药品检定研究院, 批号 110831-200803; 甲醇和碳酸钠均为分析纯, 购自济南诚言化学试剂有限公司; 马齿苋药材由山东大学药学院生药学教研所向兰教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 将马齿苋药材用粉碎机粉碎, 过 20 目筛。称取药材 1 g, 精密称定, 加入 80% 甲醇 10 倍量, 超声提取 3 次(功率 200 W, 频率 45 kHz), 15 min/次, 滤过, 滤液合并后用 80% 甲醇定容至 50 mL, 即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 取没食子酸对照品适量, 精密称定, 加 80% 甲醇制成 1 mg/mL 的溶液。精密量取该对照品溶液适量, 稀释至 0.4 mg/mL, 备用。

2.2 FC 法测定马齿苋多酚最佳反应条件的研究

2.2.1 最大吸收波长的确定 精密量取马齿苋药材供试品溶液和 0.4 mg/mL 没食子酸对照品溶液 100 μ L, 分别加入 FC 试剂 1 mL 和 20% Na_2CO_3 2 mL, 反应 30 min 后, 在 400~900 nm 波长进行全波长扫描。结果表明马齿苋药材供试品溶液和没食子酸对照品溶液在 760 nm 处均有最大吸收, 因此选用 760 nm 作为测定的最大吸收波长。

2.2.2 20% Na_2CO_3 溶液最佳加入量的确定 精密量取马齿苋供试品溶液 100 μ L, 置于 10 mL 量瓶中, 加入 0.2 mol/L FC 试剂 1.5 mL, 摇匀, 静置 4~5 min, 分别加入 20% Na_2CO_3 溶液 0.5、0.75、1.5、3.0、4.5 mL, 加蒸馏水至刻度, 摇匀, 置于室温反应 30 min 后在 760 nm 测定吸光度, 结果见表 1。可见当 20% Na_2CO_3 加入量为 0.75 mL 时, 吸光度值最大, 因此, 确定 20% Na_2CO_3 溶液最佳加入量为 0.75 mL。

2.2.3 FC 试剂最佳用量的确定 精密量取马齿苋供试品溶液 100 μ L, 置于 10 mL 量瓶中, 分别加入 0.2 mol/L FC 试剂 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL, 摇匀, 静置 4~5 min, 加入 20% Na_2CO_3 溶液 0.75 mL, 加蒸馏水至刻度, 摇匀, 置于室温反应 30 min 后在

760 nm 测定吸光度, 结果见表 2。可见当加入 FC 试剂 2.0 mL 时吸光度值达到最大值并趋于稳定, 故选择 2.0 mL 为 FC 试剂的最佳用量。

表 1 20% Na_2CO_3 加入量考察

Table 1 Amount of 20% Na_2CO_3

20% Na_2CO_3 /mL	吸光度值
0.5	0.335
0.75	0.345
1.5	0.326
3.0	0.308
4.5	0.301

表 2 FC 试剂最佳用量的考察

Table 2 Amount of FC reagent

FC 试剂用量 /mL	吸光度值
0.5	0.255
1.0	0.329
1.5	0.356
2.0	0.371
2.5	0.375

2.2.4 最佳反应时间的确定 精密量取马齿苋供试品溶液 100 μ L, 置于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 加入 0.2 mol/L FC 试剂 2.0 mL, 摇匀, 静置 4~5 min, 加入 20% Na_2CO_3 溶液 0.75 mL, 摇匀, 在 760 nm 测定室温下吸光度随时间的变化, 结果见图 1。结果显示, 供试品溶液和 FC 试剂在室温下反应 30 min 后, 吸光度值达到最大值且趋于稳定, 故最佳反应时间定为 30 min。

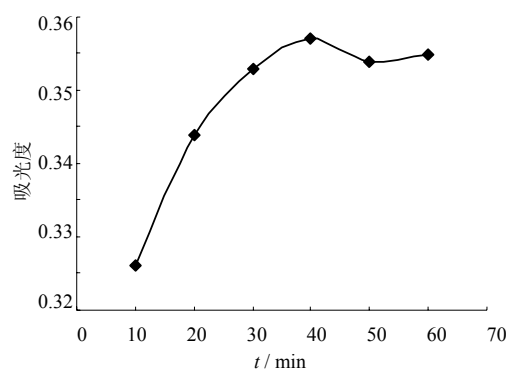


图 1 最佳反应时间考察

Fig. 1 Optimum reaction time

2.3 标准曲线的建立

精密量取 1.0 mg/mL 没食子酸对照品溶液，依次稀释至质量浓度分别为 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 mg/mL，分别精密量取上述溶液 100 μ L 于 10 mL 棕色量瓶中，加入 FC 试剂 2 mL 充分摇匀，放置 4~5 min，加入 20% Na₂CO₃ 溶液 0.75 mL，加去离子水至刻度，摇匀后室温放置 30 min，在 760 nm 波长下测其吸光度值。以吸光度值为纵坐标，质量浓度为横坐标，绘制标准曲线。结果表明没食子酸在 0.1~1.0 mg/mL 与吸光度值呈良好的线性关系，其线性回归方程为 $Y=1.096\ 1\ X+0.044\ 7$ ($R^2=0.999\ 6$)。

2.4 精密度试验

精密量取马齿苋药材（批号 20100501）供试品溶液 100 μ L，按照 2.3 项下方法处理，在 760 nm 下测定吸光度值，连续测定 6 次，结果总多酚吸光度的 RSD 值为 0.87%。

2.5 稳定性试验

精密量取马齿苋药材（批号 20100501）供试品

溶液 100 μ L，按照 2.3 项下方法处理，每隔 2 h 在 760 nm 下测定吸光度值，共测定 6 次，结果总多酚吸光度的 RSD 值为 0.90%。结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.6 重复性试验

取马齿苋药材（批号 20100501）6 份，制备供试品溶液，按照 2.3 项下方法处理，计算总多酚平均质量分数为 16.44 mg/g，RSD 值为 3.11%。

2.7 加样回收率试验

取马齿苋药材（批号 20100501）6 份，每份约 0.5 g，精密称定，分别加入 2.02 mg/mL 没食子酸对照品溶液各 4 mL，制备供试品溶液，按照 2.3 项下方法处理，测定，计算得总多酚的平均回收率为 102.45%，RSD 值为 2.50%。

2.8 马齿苋药材中多酚测定

取不同产地的马齿苋药材，平行 3 份样品，制备供试品溶液，按照 2.3 项下方法处理，测定，结果见表 3。11 批马齿苋药材中总多酚质量分数最高为 17.37 mg/g，最低为 6.30 mg/g。

表 3 不同产地马齿苋药材中总多酚的测定结果 ($n=3$)

Table 3 Determination of total polyphenols in *Portulaca oleracea* from various habitats ($n=3$)

序号	采购（集）地	采购（集）时间	总多酚/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
1	辽宁省大连市保健大药房	2007-03	17.37±0.22	1.27
2	山东大学药学院生药所药圃（采集）	2006-08	16.49±0.53	3.24
3	济南市建联中药店（批号 20100501）	2010-05	16.44±0.51	3.11
4	安徽省亳州市药市	2006-11	15.71±0.09	0.57
5	内蒙谷包头市天方医药有限公司	2006-03	14.09±0.53	3.78
6	新疆伊犁察布查尔县平原林场（采集）	2007-07	13.33±0.44	3.31
7	济南人川药业有限公司	2006-01	10.63±0.12	1.11
8	济南绿色药业有限公司	2010-04	10.53±0.20	1.87
9	新疆乌鲁木齐新特药业公司	2007-03	9.60±0.10	1.05
10	济南市建联中药店（2005）	2005-03	7.24±0.19	2.56
11	吉林省长春市国信大药房	2007-03	6.30±0.12	1.94

3 讨论

传统中药马齿苋具有清热解毒、凉血止血的功效，我国历代药典均有收载。多酚是马齿苋药效物质基础的重要组成部分，建立其测定方法对于马齿苋药材的质量控制有着重要意义。

本实验通过优化 FC 比色法的最佳反应条件，建立了马齿苋药材中总多酚的测定方法；在此基础

上，通过考察精密度、稳定性、重复性和回收率评价了该方法。FC 比色法简单、快速、稳定、准确，可用于马齿苋总多酚的测定。

本实验以总多酚为指标，考察了不同产地的马齿苋药材，结果表明不同产地马齿苋药材多酚含量差异较大，凸显了对马齿苋药材进行质量控制的重要性。基于以上结果，建议马齿苋药材中总多酚含

量以没食子酸计不低于 6 mg/g。此外马齿苋药材中总多酚的差异是否与不同采收季节和不同的产后加工方式有关还有待深入研究。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 46.
- [2] 向 兰, 邢东明, 王 伟, 等. 马齿苋化学成分研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2006(7): 64-68.
- [3] Erkan N. Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L. [J]. *Food Chem*, 2012, 133: 775-781.
- [4] 吴晓青, 陈 丹, 邱红鑫, 等. 芙蓉李中总多酚含量测定方法的优选 [J]. 中国中医药科技, 2011, 18(2): 131-133.
- [5] 李 静, 聂继云, 李海飞, 等. Folin-酚法测定水果及其制品中总多酚含量的条件 [J]. 果树学报, 2008, 25(1): 126-131.
- [6] 曹艳萍, 代宏哲, 曹 炜, 等. Folin-Ciocalteu 比色法测定红枣总酚 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36(4): 1299-1302.
- [7] 叶 杰, 倪 莉. Folin-Ciocalteu 法测定黄酒中总多酚含量 [J]. 福建轻纺, 2006(11): 66-69.
- [8] 李巨秀, 王柏玉. 福林-酚比色法测定桑椹中总多酚 [J]. 食品科学, 2009, 30(18): 292-295.