

文章编号:1001-6880(2016)11-1822-08

大叶千斤拔的微波预处理-超声波提取工艺及其抑菌活性研究

韦坤华^{1,2,3#},蔡锦源^{2,3#},熊建文²,周小雷³,高文远^{1,3*}¹天津大学药物科学与技术学院,天津 300072; ²广西科技大学鹿山学院,柳州 545616;³广西药用植物园 广西药用资源保护与遗传改良重点实验室,南宁 530023

摘要:对大叶千斤拔的微波预处理-超声波提取工艺及其抑菌活性进行研究。以染料木素得率和染料木苷得率为考察指标,通过单因素实验与正交实验优选大叶千斤拔中染料木苷和染料木素的最佳提取工艺,并对微波预处理-超声波提取法、超声波提取法和热水浸提法进行了对比研究,同时研究大叶千斤拔提取液和染料木素的抑菌活性。最佳提取工艺条件为:微波功率 700 W,超声波功率 200 W,解析剂比 7:1 (mL/g),微波时间 180 s,乙醇为提取溶剂,乙醇体积分数 90%,液料比 35:1 (mL/g),提取温度 80 °C,提取时间 15 min。该工艺条件下,染料木苷得率为 0.9047 mg/g,染料木素得率为 0.4834 mg/g,总得率为 1.3881 mg/g,优于超声波提取法和热水浸提法。在实验范围内染料木素和大叶千斤拔提取液对 3 种常见菌的抑制作用大小均为金黄色葡萄球菌 > 枯草芽孢杆菌 > 大肠杆菌,但染料木素对大肠杆菌无明显抑制作用。微波预处理-超声波提取法具有省时高效的特点,特别适用于大叶千斤拔染料木苷和染料木素的提取,大叶千斤拔提取液具有良好的抑菌活性,可作为天然的食品防腐剂。

关键词:微波预处理-超声波提取;大叶千斤拔;染料木素;染料木苷;抑菌活性

中图分类号:R286.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.11.025

Optimization of Ultrasonic Extraction Coupled with Microwave Treatment of *Flemingia macrophylla* and its Antibacterial Activity

WEI Kun-hua^{1,2,3#}, CAI Jin-yuan^{2,3#}, XIONG Jian-wen², ZHOU Xiao-lei³, GAO Wen-yuan^{1,3*}

¹Lushan College of Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545616, China; ²Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and Genetic Improvement, Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant, Nanning 530023, China

Abstract: To study the ultrasonic extraction coupled with microwave treatment of *Flemingia macrophylla* and its antibacterial activity. The extraction yields of genistein and genistin were used as evaluation index, the single factor experiment and orthogonal experiment were used to optimize the microwave treatment-ultrasonic extraction conditions of genistein and genistin from *F. macrophylla*. The optimal extraction conditions were compared with ultrasonic extraction and hot water extraction. The antibacterial activities of *F. macrophylla* extracts and genistin were also studied. The optimal extraction conditions were as follows: microwave power 700 W, ultrasonic power 200 W, desorption agent ratio 7:1 (mL/g), microwave time 180 s, with 90% ethanol as extraction solvent, liquid/solid ratio 35:1 (mL/g), extraction temperature 80 °C, extraction time 15 min. Under the optimal conditions, the total yield of genistein and genistin was 1.3881 mg/g, and the yield of genistein and genistin were 0.9047 mg/g and 0.4834 mg/g, respectively. It was higher than that of ultrasonic extraction and hot water extraction. The inhibitory effect of *F. macrophylla* extracts and genistin on three common bacteria were *Staphylococcus aureus* > *Bacillus subtilis* > *Escherichia coli*, but genistin had no obvious inhibitory effect on

收稿日期:2016-05-31 接收日期:2016-08-31

基金项目:国家自然科学基金(81460582);国家中医药行业科研专项(201507002);广西科学研究与技术开发计划项目(14125008-2-21);广西自然科学基金项目(2016GXNSFBA380025);广西高校科学技术研究项目(KY2015YB523)

#为共同第一作者

* 通讯作者 E-mail: pharmgao@tju.edu.cn

Escherichia coli. In conclusion, ultrasonic extraction coupled with microwave treatment was suitable for the extraction of genistein and genistin from *F. macrophylla*. *F. macrophylla* extracts, with good antibacterial activity, can be used as a natural food preservative.

Key words: ultrasonic extraction coupled with microwave treat-

ment; *Flemingia macrophylla*; genistin; genistein; antibacterial activity

大叶千斤拔是 2015 版《中国药典》中收载的几种常用千斤拔属植物之一^[1],其性温,味甘,有消炎止痛、祛风活血、治疗妇科病、治肾虚阳痿、抑制癌细胞增殖等功效^[2,3],是妇科千金片、壮腰健肾丸、活络止痛丸等中成药的主要原料^[4]。染料木素可与人体内的胞内受体及雌激素胞膜相结合,其化学结构与内源性雌激素相似,是一种天然的酪氨酸激酶^[5],具有抗氧化、雌激素样作用、抗肿瘤、抗糖尿病、预防心血管系统疾病和抗骨质疏松作用等药理活性^[6,7]。广西拥有丰富的大叶千斤拔资源,可作为制备染料木素的植物原料,大叶千斤拔除了含有染料木素外,还富含染料木苷,染料木苷是染料木素的衍生物,与染料木素有相似的药理作用,可在体内被水解为染料木素起作用,是制备染料木素的理想原料^[8-10]。然目前有关大叶千斤拔中染料木苷和染料木素提取的文献报道较少。文献报道^[11]采用微波预处理植物原料可大大缩短提取时间,提高提取效率。微波预处理-超声波提取法^[12]是一种新型高效的提取方法,本研究以染料木素和染料木苷得率作为考察指标,通过单因素实验系统地研究了微波时间、解析剂比、溶剂类型、乙醇体积分数、液料比、提取温度和提取时间 7 个因素对大叶千斤拔中染料木苷和染料木素的微波预处理-超声波提取工艺的影响,并采用正交实验设计优选最佳提取工艺条件并研究大叶千斤拔提取液和染料木素的抑菌活性,为大叶千斤拔的进一步开发利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大叶千斤拔药材根块(产地广西贺州,购于南宁生源中药饮片有限责任公司),染料木苷标准品(中国生物药品制品检定所,批号:13080716),染料木素标准品(中国生物药品制品检定所,批号:13080816),染料木素((98%,陕西青润植物科技有限公司);牛肉膏、蛋白胨等为生物试剂,菌种:大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌;甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司),磷酸、乙醇等为国产分析纯,超纯水(实验室自制),链霉素(阿拉丁试剂公司)。

Agilent 1260 Infinity 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),1810-B 型石英自动双重纯水蒸馏器(江

苏大地仪器厂),EM-2012MS1 微波炉(合肥荣事达三洋电器股份有限公司),KQ-5200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),101-1 型电热鼓风干燥箱(上海沪南科学仪器联营厂),DFY-200 高速万能粉碎机(温山市林大机械有限公司),FA2004 型电子分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司),CP225D 型精密电子天平(1/10 万)(德国 LaiLa),ZJHJ-1112C 垂直流超净工作台(上海智城分析仪器制造有限公司),DNP-9162 型电热恒温培养箱(宁波江南仪器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 提取工艺线路

大叶千斤拔根块→切片→恒重干燥(温度 60 °C,2 h)→粉碎→过筛(60 目)→称重→按比例加入解析剂(超纯水)→微波预处理→按比例加入提取剂→超声波提取→过滤→旋转蒸干→色谱甲醇溶解并定容→HPLC 测量→单因素实验和正交实验设计→工艺优化。

1.2.2 指标性成分检测方法

1.2.2.1 大叶千斤拔样品溶液的制备

准确称取大叶千斤拔粉末 1.000 g,置于 250 mL 锥形瓶,采用方法“1.2.1”提取染料木苷和染料木素,过滤旋转蒸干后分 3 到 4 次加入少量色谱甲醇溶解,完全转移并定容,摇匀,即制得所需样品溶液。

1.2.2.2 染料木苷和染料木素标准品溶液的制备

称取适宜染料木素和染料木苷,分别配制成浓度为 0.233 mg/mL 染料木素标准品溶液和 0.260 mg/mL 染料木苷标准品溶液。

1.2.2.3 色谱条件的选择

GL Sciences Inc ODS-4 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相:乙腈-0.3% 磷酸水,梯度洗脱(20% ~ 60%,0 ~ 30 min),流速:0.8 mL/min,检测波长为 260 nm,柱温为 30 °C^[13]。该色谱条件下,染料木苷和染料木素的理论塔板数均大于 5000,非研究组分色谱峰与染料木苷和染料木素色谱峰均达到基线分离。

1.2.2.4 染料木苷和染料木素的标准曲线制作

取“1.2.2.2”项下染料木苷和染料木素标准品溶液,以各成分的进样量 X 分别对应的峰面积 S 进行线性回归,回归方程如表 1 所示,各成分均有良好的线性关系。

表 1 染料木苷和染料木素的回归方程

Table 1 Regression equations of genistein and genistin

成分 Composition	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	线性范围 Linear range (μg)
染料木苷 Genistein	$S_1 = 5381.20785 \times X_1 - 25.73571$	$r = 0.99994$	0.0466 ~ 0.5126
染料木素 Genistin	$S_2 = 6665.24725 \times X_2 + 33.05952$	$r = 0.99996$	0.0520 ~ 0.5720

1.2.2.5 染料木素得率、染料木苷得率和总得率计算

染料木苷得率、染料木素得率和总得率分别按公式(1)、(2)和(3)进行计算。

$$\text{染料木苷得率}(Y_1) = \frac{\text{染料木苷提取量}}{\text{投料量}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{染料木素得率}(Y_2) = \frac{\text{染料木素提取量}}{\text{投料量}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{总得率}(Y_{\text{总}}) = \text{染料木苷得率} + \text{染料木素得率} \quad (3)$$

1.3 单因素实验

在微波功率 700 W、超声波功率 200 W 固定的条件下,以染料木苷和染料木素得率为指标,分别研

究解析剂比(4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1 mL/g)、微波时间(30、60、90、120、150、180、210 s)、提取溶剂类型(水、95% 甲醇、95% 乙醇、95% 丙酮)、乙醇体积分数(40、50%、60%、70%、80%、90%、95%)、液料比(10:1、15:1、20:1、25:1、30:1、35:1、40:1、45:1 mL/g)、提取温度(50、60、70、80、90、100 °C)和提取时间(5、10、15、20、25、30 min)7 个因素对微波预处理-超声波提取工艺的影响。

1.4 正交实验设计

在单因素实验的基础上,采用正交设计表 L9(34)对大叶千斤拔中染料木苷和染料木素微波预处理-超声波提取工艺的主要影响因素进行正交实验设计,因素与水平见表 2。

表 2 正交设计实验因素与水平表

Table 2 Factors and levels for orthogonal experiment

水平 Levels	因素 Factors			
	A 微波时间 Microwave time (s)	B 乙醇体积分数 Ethanol concentration (%)	C 提取温度 Extraction temperature (°C)	D 提取时间 Extraction time (min)
1	150	70	70	10
2	180	80	80	15
3	210	90	90	20

1.5 大叶千斤拔提取液对微生物的抑制作用

1.5.1 抑菌圈的测定

按最优工艺进行提取,将大叶千斤拔提取液配置成含染料木苷和染料木素总浓度分别为 0.2 和 0.4 mg/mL 的溶液,同法取 98% 染料木素,制备成染料木素分别为 0.2 和 0.4 mg/mL 的溶液,并以无菌水作空白对照和 0.2 mg/mL 链霉素作阳性对照,采用滤纸片扩散法^[14]测量抑菌圈直径。

1.5.2 最小抑菌浓度(MIC)的测定

将大叶千斤拔提取液配置成含染料木苷和染料木素总浓度为 1.6、0.8、0.4、0.2、0.1、0 mg/mL 的溶液,并与同浓度的染料木素和链霉素对比,观察菌落生长,以未见抑菌圈的最大浓度为 MIC^[14]。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 解析剂比对染料木苷和染料木素得率的影响

由图 1 可知,解析剂比从 4:1 升到 7:1 时,大叶千斤拔染料木苷和染料木素的得率保持快速增长在 7:1 (mL/g) 处达到最大值,表明适当增大解析剂比,有利于染料木苷和染料木素浸出,但当解析剂比过大时,染料木苷和染料木素得率急剧下降,原因可能是解析剂比越大,水分含量过多,导致物料被微波作用减弱,相同微波辐射条件下,物料内部水分升温效果下降,破壁和破膜效果下降,染料木苷和染料木素

的浸出减少,即解析剂比以 7:1 为宜。

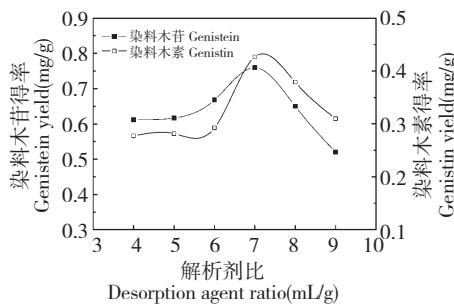


图 1 解析剂比对染料木苷和染料木素得率的影响

Fig. 1 Effects of desorption agent ratio on the yield of genistein and genistin

2.1.2 微波时间对染料木苷和染料木素得率的影响

由图 2 可知,微波时间在 30 s 升到 180 s 时,染料木苷和染料木素的得率呈快速增长趋势,在 180 s 处时达到最大值,表明适当延长微波时间,可提高微波对物料的破壁和破膜效果,有利于染料木苷和染料木素浸出。但微波时间超过 180 s 后,有效成分浸出量下降,原因可能是微波时间过长,导致水分大量蒸发,物料内部局部焦糊,部分有效成分损失。由上述分析可知,微波时间以 180 s 为宜。

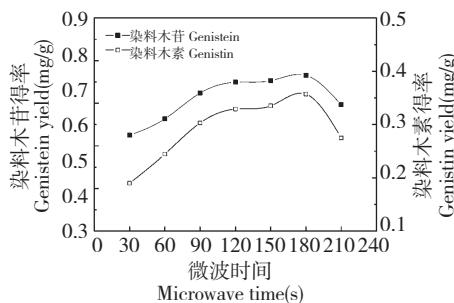


图 2 微波时间对染料木苷和染料木素得率的影响

Fig. 2 Effects of microwave time on the yield of genistein and genistin

2.1.3 溶剂类型对染料木苷和染料木素得率的影响

由图 3 可知,不同的提取溶剂对大叶千斤拔染料木苷和染料木素得率的影响效果较大,其中 95% 甲醇得率最高,超纯水最低,仅从得率大小考虑,甲醇为最佳提取溶剂。但采用乙醇作为溶剂所得染料木苷和染料木素得率与甲醇相差不大,从实际生产成本、实用性和安全性等方面考虑,选择经济又安全、无污染且易回收的乙醇为提取溶剂更适宜。

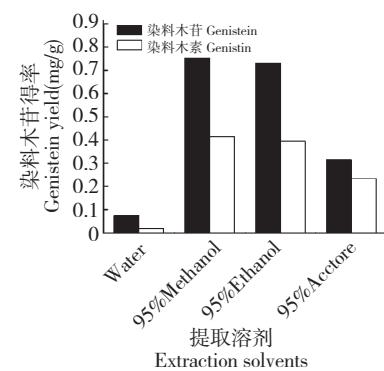


图 3 溶剂类型对染料木苷和染料木素得率的影响

Fig. 3 Effects of different solvents on the yield of genistein and genistin

2.1.4 乙醇体积分数对染料木苷和染料木素得率的影响

由图 4 可知,乙醇体积分数从 40% 升到 80% 时,染料木苷和染料木素得率保持快速增长趋势,在 80% 处达到最大值,说明乙醇体积分数越大,越有利染料木苷和染料木素浸出。但当乙醇体积分数超过 80% 之后,得率开始下降,原因可能是高浓度乙醇溶液的极性与染料木苷及染料木素极性差异增大,染料木苷和染料木素溶解度变小,故得率下降。从节约溶剂成本方面考虑,乙醇体积分数以 80% 为宜。

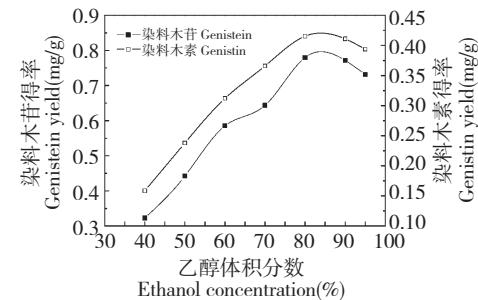


图 4 乙醇体积分数对染料木苷和染料木素得率的影响

Fig. 4 Effects of ethanol concentration on the yield of genistein and genistin

2.1.5 液料比对染料木苷和染料木素得率的影响

由图 5 可知,液料比在 35:1 之前,染料木苷和染料木素得率随着液料比的增大而不断增大,35:1 之后得率上升非常缓慢。若以得率作为评价标准,液料比越大越好,即在实验范围内选择 50:1 最佳,但从实际生产成本(主要是溶剂用量和后续浓缩成本)考虑,液料比选择 35:1 为宜。

2.1.6 提取温度对染料木苷和染料木素得率的影响

由图 6 可知,当提取温度从 40 ℃ 上升到 80 ℃ ,

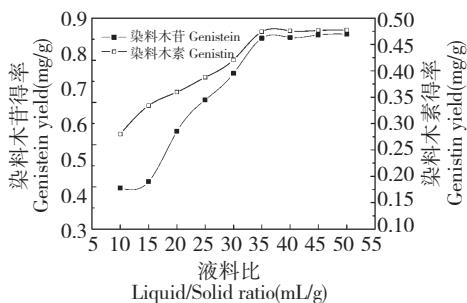


图 5 液料比对染料木苷和染料木素得率的影响

Fig. 5 Effects of liquid/solid ratio on the yield of genistein and genistin

染料木苷和染料木素得率均随着提取温度的升高而不断增大,80 ℃之后得率反而有所下降。原因可能是提高温度有利于分子运动,促进染料木苷和染料木素溶出,但过高的提取温度促进了乙醇挥发,大量溶剂损失,降低了溶剂对染料木苷和染料木素的溶解能力,导致得率下降。从染料木苷和染料木素得率及能耗方面综合考虑,提取温度以80 ℃为宜。

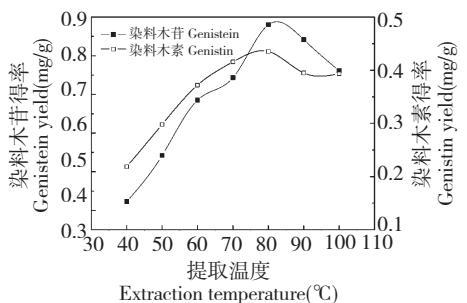


图 6 提取温度对染料木苷和染料木素得率的影响

Fig. 6 Effects of extraction temperature on the yield of genistein and genistin

2.1.7 提取时间对染料木苷和染料木素得率的影响

由图7可知,提取时间在5~15 min内,染料木苷和染料木素得率均呈不断上升趋势,说明提取时间越长,有效成分溶出量越大。但15 min以后得率趋于平衡,上升趋势非常缓慢,即超声波提取15 min染料木苷和染料木素已基本溶出,再延长提取时间已无太大意义,故提取时间以15 min为宜。

2.2 正交实验结果

通过上述单因素实验不难发现,染料木苷和染料木素得率随各因素水平变化趋势均一致,且染料木苷和染料木素的市场价格相差不大,故正交实验设计以染料木苷和染料木素的总得率(Y总)作为

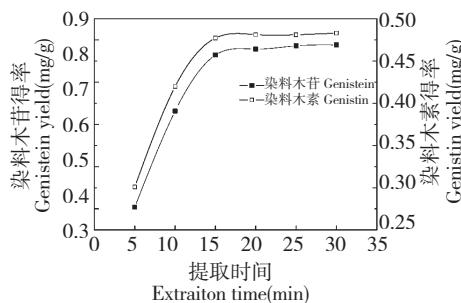


图 7 提取时间对染料木苷和染料木素得率的影响

Fig. 7 Effects of extraction time on the yield of genistein and genistin

评价指标。在单因素实验的基础上,确定提取溶剂为乙醇,并考虑溶剂用量和后期浓缩成本,解吸剂比和液料比均选择单因素最优水平,即分别设定为7:1和35:1,余下因素作为主要影响因素按表2进行正交实验设计,正交实验结果见表3。对表3进行直观分析可知:各因素对大叶千斤拔提取工艺中的染料木苷和染料木素影响大小为:微波时间(A)>提取温度(C)>乙醇体积分数(B)>提取时间(D),最优工艺组合为:A2B3C2D3,因素D对工艺的影响最小,且D2与D3对Y总的影响仅相差0.001,选择D2可缩短约25%的提取时间,综合考虑提取效率,最优工艺组合修正为A2B3C2D2,即微波时间180 s,乙醇浓度90%,提取温度80 ℃,超声时间15 min。由表4可知,微波时间(A)对Y总有显著影响($P < 0.05$),而乙醇体积分数(B)、提取温度(C)和提取时间(D)对Y总无显著影响($P > 0.05$)。按最优工艺条件分别进行3次提取实验,Y总为1.3881 mg/g,均高于正交实验表中的9个实验组合,表明实验方案设计稳定、可行。

2.3 对比实验

将微波辅助超声波提取法(a)与目前流行且得率较高的超声波提取法(b)、热水浸提法(c)相对比,实验结果如表5。三种方法中,微波预处理-超声波提取法所提取的染料木苷和染料木素得率最高,超声波提取法次之,热水浸提法最低;a法与b法对比发现,进行3min的微波预处理,染料木苷和染料木素总得率可提高48.14%;b法与c法对比发现,采用超声波提取比传统的热水浸提法的总得率提高了29.81%。表明采用微波预处理-超声波提取法可大大提高大叶千斤拔中染料木苷和染料木素的提取效率。

表3 正交实验结果

Table 3 Results of orthogonal experiment

序号 No.	A	B	C	D	Y_1 (mg/g)	Y_2 (mg/g)	$Y_{\text{总}}$ (mg/g)
1	1	1	1	1	0.6754	0.4125	1.0879
2	1	2	2	2	0.8878	0.3778	1.2656
3	1	3	3	3	0.7952	0.3654	1.1606
4	2	1	2	3	0.9015	0.4596	1.3611
5	2	2	3	1	0.8947	0.3807	1.2754
6	2	3	1	2	0.9037	0.4711	1.3748
7	3	1	3	2	0.6239	0.3982	1.0221
8	3	2	1	3	0.7884	0.3548	1.1432
9	3	3	2	1	0.8211	0.3706	1.1917
K1	1.171	1.157	1.202	1.185			
K2	1.337	1.228	1.273	1.221			
K3	1.119	1.242	1.153	1.222			
R	0.218	0.085	0.120	0.037			

表4 正交实验结果方差分析

Table 4 Variance analysis of orthogonal experiments results

方差来源 Source	SS	f	F	F0.05 (2,2)	P 显著性 P significance
A	0.078	2	26.000	19.000	*
B	0.013	2	4.333	19.000	
C	0.022	2	7.333	19.000	
D(误差 error)	0.003	2	1.000	19.000	

表5 对比实验结果

Table 5 Results of comparative experiment

方法 method	微波功率 Microwave power (W)	微波时间 Microwave time (s)	解析剂比 Desorption agent ratio (mL/g)	乙醇体积分数 Ethanol concentration (%)	液料比 Liquid/solid ratio (mL/g)	超声功率 Ultrasonic power (W)	提取温度 Extraction temperature (℃)	提取时间 Extraction time (min)	Y_1 (mg/g)	Y_2 (mg/g)
a	700	180s	7:1	90%	35:1	200	80	15	0.9047	0.4834
b	-	-	-	90%	35:1	200	80	15	0.6239	0.3131
c	-	-	-	90%	35:1	-	80	15	0.4878	0.2340

2.4 大叶千斤拔提取液的抑菌活性

由表6可知,大叶千斤拔提取液对三种菌均有一定程度的抑制作用,抑制作用大小依次为金黄色葡萄球菌>枯草芽孢杆菌>大肠杆菌,而同浓度的染料木素对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑制作用

较明显,对大肠杆菌无明显抑制作用;在实验范围内,染料木素对大肠杆菌无明显抑制作用,而0.4 mg/mL的大叶千斤拔提取液对大肠杆菌有一定抑制作用,原因可能是大叶千斤拔提取液中其他成分对大肠杆菌有一定的抑制作用;相同浓度下,染料木

素对金黄色葡萄球菌的抑制作用较大叶千斤拔提取液强,而对枯草芽孢杆菌则相反。大叶千斤拔提取液与染料木素的抑菌活性均低于同浓度的链霉素;0.4 mg/mL 染料木素对枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄

球菌的抑菌活性较 0.2 mg/mL 链霉素稍强;0.4 mg/mL 大叶千斤拔提取液对枯草芽孢杆菌的抑菌活性较 0.2 mg/mL 链霉素稍强,但对金黄色葡萄球菌的抑菌活性与 0.2 mg/mL 链霉素相当。

表 6 大叶千斤拔提取液抑菌作用

Table 6 Antibacterial effects of *F. macrophylla* extracts

样品 Sample	浓度 Concentration (mg/mL)	抑菌圈直径 Diameter of inhibition zone (mm)		
		大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
无菌水	0	5.0	5.0	5.0
大叶千斤拔提取液 <i>F. macrophylla</i> extracts	0.2	5.5	8.3	8.9
	0.4	7.8	10.6	11.8
染料木素 Genistin	0.2	5.1	7.7	10.1
	0.4	5.2	9.8	14.6
链霉素 Streptomycin	0.2	9.9	9.2	12.2

2.5 大叶千斤拔提取液最小抑菌浓度

由表 7 可知,在实验范围内,大叶千斤拔提取液对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的 MIC 分别为 1.6、0.4 和 0.4 mg/mL;染料木素对枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的 MIC 分别为 0.4 和 0.2 mg/mL,对大肠杆菌无抑制作用;链霉素对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌的 MIC

分别为 0.2、0.2、0.1 mg/mL。染料木素对金黄色葡萄球菌的 MIC 较大叶千斤拔提取液小,表明染料木素对金黄色葡萄球菌的抑制效果优于大叶千斤拔提取液。大叶千斤拔提取液和染料木素对 3 种常见菌的 MIC 均大于链霉素,表明大叶千斤拔提取液和染料木素的抑菌效果较链霉素弱,但仍具有较好的抑菌活性,可作为天然的食品防腐剂。

表 7 大叶千斤拔提取液的抑菌 MIC

Table 7 MIC of *F. macrophylla* extracts

样品 Sample	菌种 Bacterial species	浓度 Concentration (mg/mL)					
		1.6	0.8	0.4	0.2	0.1	0
大叶千斤拔提取液 <i>F. macrophylla</i> extracts	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	-	+	++	++	+++	+++
	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	+	++	+++
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	++	+++	+++
	染料木素 Genistin	+ + + +	++	++	+++	+++	+++
染料木素 Genistin	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	+	++	+++
	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+	+++
+ + +	链霉素 Streptomycin	-	-	-	-	-	+
	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	+	+++
+ + +	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	+++

注: - 无菌生长; + 菌体较少; ++ 表示有菌体较多; + + + 表示菌体非常多。

Note: “-” no bacteria; “+” small amount bacteria; “++” large amount bacteria; “+ + +” extremely large amount bacteria.

3 结论

在微波功率 700 W,超声功率 200 W 固定的条件下,采用单因素实验法系统地研究解析剂比、微波时间、溶剂类型、乙醇体积分数、液料比、提取温度、提取时间 7 个影响因素对大叶千斤拔中染料木苷和染料木素的微波预处理-超声波提取工艺的影响,并对微波时间、乙醇体积分数、提取温度和提取时间进行了正交实验设计,优选的最佳工艺条件为:微波功率 700 W,超声波功率 200 W,解析剂比 7:1 (mL/g),微波时间 180 s,乙醇为提取溶剂,乙醇体积分数 90%,液料比 35:1 (mL/g),提取温度 80 ℃,提取时间 15 min,该工艺条件下,染料木苷得率为 0.9047 mg/g,染料木素得率为 0.4834 mg/g,总得率为 1.3881 mg/g,均明显优于超声波提取法和热水浸提法。抑菌实验表明在实验范围内,大叶千斤拔提取液对金黄色葡萄球菌的抑制作用最强,枯草芽孢杆菌次之,并对大肠杆菌也有一定的抑制作用;染料木素对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌有较强的抑制作用,但对大肠杆菌无抑制作用;大叶千斤拔提取液和染料木素的抑菌活性均弱于阳性对照链霉素,但总体具有良好的抑菌活性,可作为天然的食品防腐剂。微波预处理-超声波提取法是一种高效、稳定、快捷且易操作的绿色新型提取技术,将其应用于大叶千斤拔染料木苷和染料木素的提取工艺中,可大大提高染料木苷和染料木素的提取效率。

参考文献

- 1 Ren CQ(任朝琴),Liu Y(刘圆),Yuan W(袁玮). Study on *Moghania macrophylla* (Willd.) O. Kuntze and *Moghania philippinensis* (Merr. et Rolfe) Li by HPLC Fingerprint. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药),2010,21:2945-2947.
- 2 Wang J(王娇),Fan X(范贤),Cen YZ(岑颖洲). Studies on the antitumor constituents in *Flemingia philippinensis* Merr. et Rolfe. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发),2013,25:1315-1319.
- 3 Chen S(陈帅),Liu K(刘克). Study on extraction process of total saponins from *Flemingia Philippinensis*. *J Jilin Institute Chem Technol* (吉林化工学院学报),2012,29(9):59-61.
- 4 Yang QM(杨启明),Zhang CF(张春凤),Yang ZL(杨中

- 林). Simultaneous determination of genistin and genistein in *moghania Philippinens* (Merr. et Rolfe) Li. from different places by HPLC. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学),2012,29:744-748.
- 5 Huang ZH(黄志华),Li LD(李良东),Han LM(韩立民). Neuroprotection effect of genistein and its mechanism: research advances. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志),2015,29:141-146.
- 6 Li WH(李蔚辉). Study on antioxidation of genistein in mice. *Anti Infect Pharm* (抗感染药学),2014,11:200-202.
- 7 Zhang B,Liu JY,Pan JS,et al. Combined treatment of ionizing radiation with genistein on cervical cancer HeLa cells. *J Pharmacol Sci*,2006,102:129-135.
- 8 Hussain MD,Saxena V,Brausch JF,et al. Ibuprofen-phospholipid solid dispersions: improved dissolution and gastric tolerance. *Int J Pharm*,2011,422:290-294.
- 9 Indrajit G,Jennifer S,Radha V,et al. Comparison of HPMC based polymers performance as carriers for manufacture of solid dispersions using the meltextruder. *Int J Pharm*,2011,419(1-2):12-19.
- 10 Cai JY(蔡锦源),Chen L(陈玲),Zhu CX(朱炽雄),et al. The research progress of preparation method of genistein. *Grain Sci Tech Econ* (粮食科技与经济),2015,40(4):69-72.
- 11 Cai JY(蔡锦源),Sun S(孙松),Li XH(李新海),et al. Optimization of microwave-assisted extraction of *Lentinan* using uniform design and orthogonal design. *J Henan Univ Tech, Nat Sci* (河南工业大学学报,自科版),2016,37(1):78-83.
- 12 Shi J(史娟). Study on the ultrasonic extraction and stability of polysaccharide from *Fructus corni* by microwave treatment. *Food Res Dev* (食品研究与开发),2014,35(1):1-5.
- 13 Cai JY(蔡锦源),Zhou XL(周小雷),Xiong JW(熊建文),et al. Study on the microwave-assisted extraction technology of genistein and genistin from *Flemingia macrophylla* with uniform design and orthogonal design. *Appl Chem Ind* (应用化工),2016,45:402-405.
- 14 Xiong JW(熊建文),Xu JR(许金蓉),Zhang JY(张佳艳),et al. Study on enzymatic-assisted ultrasonic extraction and antibacterial activity of polysaccharide from *Hylocereus undatus*. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技),2015,36:229-233.