

# Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 对红薯叶总黄酮提取及抑菌活性的影响

张亦琳\*, 延永, 田小龙

商洛学院生物医药与食品工程学院, 商洛 726000

**摘要:**为考察 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 对红薯叶总黄酮提取率和抑菌活性的影响。本实验采用单因素实验确定 Ca<sup>2+</sup> 浓度、Mg<sup>2+</sup> 浓度、料液比、乙醇浓度、提取时间的最佳因素水平,通过响应面法优化得到引入 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 后红薯叶总黄酮的最佳提取工艺,即 Ca<sup>2+</sup> 浓度 187 mg/L、Mg<sup>2+</sup> 浓度 176 mg/L、乙醇浓度 71%、料液比 1:40,提取时间为 1 h,经验证,该工艺总黄酮提取率为 2.76%,略高于传统的提取工艺。该提取物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的 MIC 值分别为 62.5、31.25、31.25 μg/mL,明显低于不含 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 的红薯叶总黄酮提取物(对应 MIC 值依次为 250、125、62.5 μg/mL),由此可见,在提取过程中引入 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 可以明显增强红薯叶总黄酮的抑菌活性。

**关键词:**钙镁离子;红薯叶;总黄酮;响应面法;抑菌活性

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)12-2039-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.12.003

## The effects of Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> on the extraction and antibacterial activity of total flavonoids from sweet potato leaves

ZHANG Yi-lin\*, YAN Yong, TIAN Xiao-long

College of Biology Pharmacy and Food Engineering, Shangluo University, Shangluo 726000, China

**Abstract:** In this study, we investigated the effects of Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> on the extraction and antibacterial activity of total flavonoids from sweet potato leaves. Single-factor experiments were conducted to determine the optimal levels of Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> concentration, solid-liquid ratio, and ethanol concentration and extraction time. Response surface method was used to optimize extraction condition by introducing Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> in sweet potato leaf flavonoids extracts. The optimum extraction process was Ca<sup>2+</sup> concentration: 187 mg/L, Mg<sup>2+</sup> concentration: 176 mg/L, ethanol concentration: 71%, the material liquid: 1:40 and extraction time: 1 h. The extraction yield was 2.76%, which is slightly higher than that of the traditional extraction technology. The MIC values of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* were 69.69, 69.69 and 34.85 μg/mL, which was significantly lower than those of sweet potato leaves flavonoids extracts without Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> (250, 125 and 62.5 μg/mL). Therefore, the extracts contained Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> could significantly enhance the antibacterial activity.

**Key words:** Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup>; sweet potato leaves; flavonoids; response face method; antibacterial activity

中医是人类智慧的结晶,为中华民族的繁荣发展做出了卓越的贡献,但中药发展面临的诸多问题阻碍了中医现代化进程<sup>[1]</sup>。比如,水质对中药汤剂的药效会产生显著影响。李时珍在《本草纲目》中记载不同的水(雨水、泉水、井水等)因水质硬度不同(Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 含量不同)对疗效有巨大影响。莫国轩<sup>[2]</sup>指出金属离子对药物疗效有重要影响,药物的有效成分与离子发生作用,可提高疗效或者增加

毒性,使药物原有的药物疗效发生改变,比如强心苷类药物会与机体中的钾离子作用,导致中毒症状,而 Mg<sup>2+</sup> 则可降低其毒性<sup>[3]</sup>;药物分子与 Fe<sup>3+</sup> 结合使其含量降低会导致疲劳、免疫力下降等症状<sup>[4]</sup>。鉴于金属离子对药物有效成份的重要作用,对于植物有效成份的提取应充分考虑水质(离子含量)对提取物活性的影响,令人遗憾的是,目前该领域的研究尚待开拓。

红薯叶为旋花科植物红薯 *Ipomoea batatas* (L.) Lam 成熟后地上秧茎顶端的嫩叶,素有“蔬菜皇后”、“抗癌蔬菜”、“长寿蔬菜”等美誉<sup>[5]</sup>。红薯叶作为红、薯生产的副产品,它富含生物活性成份,具有

收稿日期:2019-06-01 接受日期:2019-10-22

基金项目:国家自然科学基金(21703135);陕西省自然科学基金研究计划(2018JQ2070);陕西省教育厅专项科研计划(18JK0250)

\*通信作者 Tel:86-914-2363187;E-mail:yilin\_190@126.com

极高的保健作用和药用价值<sup>[6]</sup>,研究表明红薯叶黄酮可提高机体免疫能力<sup>[7]</sup>,促进新陈代谢<sup>[8]</sup>,还可以降低血清含糖量<sup>[9]</sup>,畅通大小便、预防各类动脉硬化和细胞发生癌变<sup>[10]</sup>、缓解眼疲劳和补充维生素A等<sup>[11]</sup>,其提取物还可被开发为面膜<sup>[12]</sup>等护肤产品,红薯叶总黄酮的提取和生物活性研究一直是关注的热点<sup>[13]</sup>。

本研究考察了自然界水中含量最多的Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>对红薯叶总黄酮提取和抑菌活性的影响。通过单因素和响应面优化方法获得红薯叶的提取过程中引入Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>的最佳工艺,得到引入Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>的红薯叶总黄酮提取物,探索Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>对红薯叶总黄酮类化合物提取和抑菌活性的影响,为研究硬水中常见Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>对植物资源开发利用的影响提供新的思路和建立理论基础。

## 1 材料与仪器

### 1.1 实验材料

红薯叶采摘于商洛学院试验田。

无水乙醇(分析纯,利安隆博华医药化学有限公司),亚硝酸钠、硝酸铝、水合氯化镁、氢氧化钠、无水氯化钙(分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司),芦丁标准品(中国药品生物制品研究所,纯度95%),MH培养基(北京奥博星生物技术有限责任公司),红四氮唑(天津志远科技有限公司),金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草芽孢杆菌(商洛学院微生物实验室)。

### 1.2 实验仪器

数显恒温水浴锅 HH-4 型(邦西仪器科技上海有限公司)、紫外分光光度计 UV-225 型(大连市仪器制造公司)、电子天平 S-114 型(丹佛仪器北京有限公司)、电热恒温鼓风干燥箱 DHG-9123A 型(上海齐欣科学仪器有限公司)、高压蒸汽灭菌锅 MLS-3780 型(上海鼎谦生物科技有限公司)、恒温振荡器 ZD-85 型(常州智博瑞仪器制造有限公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 芦丁标准曲线的绘制

称取芦丁标准品 0.050 2 g 于洁净烧杯中,以 20 mL 70% 乙醇微热至溶解,转移至 50 mL 容量瓶,加水定容后,得到质量浓度为 1.0 mg/mL 芦丁标准品溶液。移取该溶液 10 mL 于 100 mL 容量瓶中,加水定容后取 0、1、2、3、4、5、6 mL 稀释液分别置于 25 mL 容量瓶中,依次加 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,待反应 6 min 后加 10% 硝酸铝 1 mL,6 min 后加入 4% 氢

氧化钠溶液 10 mL,加水至刻度,15 min 后于 510 nm 下测定吸光度值(A)。以芦丁标准品溶液质量浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为  $Y = 9.9418X + 0.0026$  ( $R^2 = 0.9964$ )。

### 2.2 总黄酮含量测定及提取率计算

取 1 mL 提取液,按 2.1 方法处理后于 510 nm 处测定吸光度(A),通过标准曲线计算出提取液质量浓度,再通过公式(1)计算总黄酮提取率。

$$Y(\%) = \frac{C \times N \times V}{W} \times 100\% \quad (1)$$

式中,Y为总黄酮的提取率(%);c为浓度(mg/mL);N为稀释倍数;V为提取液体积(mL);W为药材粉末的质量(mg)。

### 2.3 单因素试验

称取干燥红薯叶粉末 1.0 g,置于 100 mL 圆底烧瓶中,加入 Ca<sup>2+</sup> 浓度分别为 125、150、175、200、225 mg/L, Mg<sup>2+</sup> 浓度为 200 mg/L 的 60% 乙醇溶液 30 mL,在 60 °C 下加热搅拌 2 h,测试 Ca<sup>2+</sup> 浓度对总黄酮提取率的影响;加入 Mg<sup>2+</sup> 浓度分别为 125、150、175、200、225 mg/L, Ca<sup>2+</sup> 浓度为 200 mg/L 的 60% 乙醇溶液 30 mL,在 60 °C 下加热搅拌 2 h,检测 Mg<sup>2+</sup> 浓度对总黄酮提取率的影响;加入 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 浓度为 200 mg/L 的 40%、50%、60%、70%、80% 乙醇溶液各 30 mL,在 60 °C 水浴中下提取 2 h,测试乙醇浓度对总黄酮提取率的影响;加入 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 浓度为 200 mg/L 的 60% 乙醇溶液 30 mL,在 60 °C 条件下,分别提取 0.5、1、1.5、2、2.5 h,测试提取时间对总黄酮提取率的影响;加入 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 浓度为 200 mg/L 的 60% 乙醇溶液,料液比分别为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50,并在水浴温度 60 °C 下,提取 2 h,测试料液比对总黄酮提取率的影响。待体系冷却后过滤,将滤液转移置 50 mL 容量瓶,加水至刻度,取 1 mL 置于 25 mL 容量瓶中,按 2.1 方法处理后测定吸光度值(A),计算总黄酮提取率。

### 2.4 响应面试验设计

根据单因素实验结果筛选出四个影响最显著的因素以及三组最佳水平,利用 Design-Expert 8.0.6 Trial 中 Box-Behnken 试验设计,以提取物总黄酮含量为考察指标,优化出包含有 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 的红薯叶总黄酮提取最佳工艺。因素水平设计如表 1。

### 2.5 验证性实验及浸膏制作

对模型模拟得出的最优工艺进行三组平行实验,以验证响应面实验的准确性与吻合度。浸膏制

表1 因素水平表

Table 1 Table of factors and levels

水平 Level	因素 Factor			
	Ca <sup>2+</sup> 浓度 Concentration of Ca <sup>2+</sup> (mg/L)	Mg <sup>2+</sup> 浓度 Concentration of Mg <sup>2+</sup> (mg/L)	乙醇浓度 Ethanol content(%)	料液比 Solid-liquid ratio
1	150	150	1:30	60
2	175	175	1:40	70
3	200	200	1:50	80

作采用醇溶性浸出物的热浸法<sup>[14]</sup>。量取提取液 25 mL 置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105 °C 干燥 3 h,移至干燥器中,冷却 30 min,迅速精密称定重量,计算,即得总浸膏得率。

## 2.6 抑菌活性研究

待测液配置:称取所得浸膏 1 154.72 mg 置于 50 锥形瓶,去离子水(50 mL)溶解,转移至 100 mL 容量瓶,去离子水定容,得到总黄酮浓度为 2 000 μg/mL 的药液。溶液中 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 浓度分别为 542.4 和 510.8 μg/mL。以此浓度标准配置对照品 1(总黄酮浓度为 2 000 μg/mL)、对照品 2(总黄酮浓度为 2 000 μg/mL,后加入 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 且浓度分别为 542.4、510.8 μg/mL)、对照品 3(Ca<sup>2+</sup> 浓度为 542.4 μg/mL 溶液)、对照品 4(Mg<sup>2+</sup> 浓度 510.8 μg/mL 溶液)、对照品 5(Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 且浓度分别为 542.4 和 510.8 μg/mL 溶液)。

MH 培养基的制备<sup>[15]</sup>、菌种活化<sup>[16]</sup>、菌悬液的配制<sup>[17]</sup>参考文献方法。采用二倍稀释法<sup>[18]</sup>,在 96 孔板第 1 孔中加入 160 μL 含有红四氮唑的 MH 培养基,然后分别加入 40 μL 对应的 6 种待测液(药液、对照品 1、对照品 2、对照品 3、对照品 4、对照品 5),第 2~11 孔中加入红四氮唑培养基 100 μL,第 12 孔加 200 μL 作为阴性对照,然后于第 1 孔吸取 100 μL 置第 2 孔,于第 2 孔中吸取 100 μL 于第三孔,以此类推至第 11 孔时,多余 100 μL 溶液弃去,使药液稀释成为二倍系列稀释浓度,然后依次加入三种已经稀释好的菌液 100 μL,无菌条件下放置 12 h,观察孔板每孔颜色变化,最后根据颜色变化及初始浓度得出最小抑菌浓度。

## 3 结果与讨论

### 3.1 单因素实验

由图 1 可见,随着 Ca<sup>2+</sup> 浓度的增加红薯叶总黄酮提取率增加,当达到 175 mg/L 时,提取率达到最

大值 2.49%,继续增加 Ca<sup>2+</sup> 浓度,提取率出现下降趋势。根据测试红薯叶总黄酮提取率的高低,选 Ca<sup>2+</sup> 浓度为 150、175、200 mg/L 三个水平进行响应面优化;当加入 Mg<sup>2+</sup> 浓度在 125-175 mg/L 范围时,红薯叶总黄酮提取率与 Mg<sup>2+</sup> 浓度呈现正相关,当 Mg<sup>2+</sup> 浓度达到 175 mg/L 时,提取率达到最大值 2.44%,随后出现下降趋势。因此,选 Mg<sup>2+</sup> 浓度为 150、175、200 mg/L 三个水平进行响应面优化;乙醇浓度的增加使红薯叶总黄酮的提取率增加明显,当增加至 70%,提取率达到最大值 2.55%。可能是该比例溶剂极性与黄酮极性匹配,有利于黄酮的溶出。根据测试红薯叶总黄酮提取率的高低,选乙醇浓度为 60%、70%、80% 三个水平进行响应面优化;在提取时间 0.5~1 h 的测试范围内,红薯叶总黄酮提取率与提取时间成正相关,1 h 时提取率达到最大值 2.50%,随后出现小幅下降,可能是长时间的加热不利于红薯叶黄酮的稳定存在,综合来看,提取时间并不是红薯叶总黄酮提取的工艺的关键,因此选用提取率最高的提取时间 1 h 作为提取工艺的时间;在料液比测试范围内,先上升后下降,1:40 时,提取率达到最大值 2.56%,提取浓度过低过高不利于黄酮类化合物溶出,选乙醇浓度为 1:30、1:40、1:50 三个水平进行响应面优化。

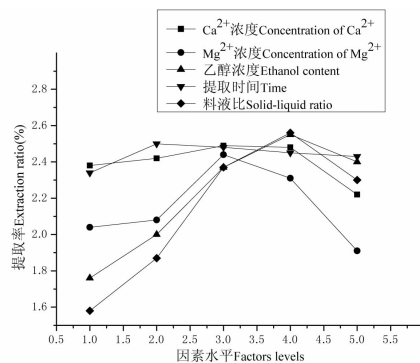


图1 单因素对红薯叶总黄酮的提取的影响

Fig. 1 Effects of various experimental factors on the yield of total flavonoids in sweet potato leaves

### 3.2 响应面试验设计结果

#### 3.2.1 因素水平的确定

利用 Design-Expert 8.0.6 Trial 设计并进行实验,结果表 2 所示:

得出响应面回归方程为:

$$\text{总黄酮提取率} = 2.67 - 0.055A + 0.022B + 0.016C + 2.5 \times 10^{-3}D - 5.0 \times 10^{-3}AB - 1.0 \times 10^{-2}AC$$

表2 响应面实验设计及结果

Table 2 Response surface experiment design and results

序号 No.	A: Ca <sup>2+</sup> 浓度 Concentration of Ca <sup>2+</sup> (mg/L)	B: Mg <sup>2+</sup> 浓度 Concentration of Mg <sup>2+</sup> (mg/L)	C: 乙醇浓度 Ethanol content (%)	D: 料液比 Eolid-liquid ratio	提取率 Extraction ratio (%)
1	200	175	70	1:30	2.44
2	175	175	70	1:40	2.66
3	175	150	80	1:40	2.25
4	175	175	70	1:40	2.65
5	150	175	80	1:40	2.53
6	175	200	70	1:30	2.43
7	150	175	60	1:40	2.41
8	175	150	70	1:50	2.42
9	175	175	60	1:50	2.44
10	175	150	60	1:40	2.47
11	200	175	70	1:50	2.23
12	150	175	70	1:30	2.46
13	200	150	70	1:40	2.22
14	175	175	70	1:40	2.71
15	150	150	70	1:40	2.22
16	150	175	70	1:50	2.45
17	200	175	80	1:40	2.31
18	175	175	80	1:50	2.42
19	200	175	60	1:40	2.23
20	150	200	70	1:40	2.24
21	200	200	70	1:40	2.22
22	175	175	80	1:30	2.43
23	175	200	70	1:50	2.44
24	175	200	80	1:40	2.46
25	175	200	60	1:40	2.34
26	175	150	70	1:30	2.29
27	175	175	60	1:30	2.32

$$-0.05AD + 0.085BC - 0.03BD - 0.033CD - 0.20A^2 - 0.20B^2 - 0.12C^2 - 0.1D^2$$

方差分析见表3,在Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>存在下,对红薯叶总黄酮提取率的回归模型进行模拟,该模型F值为4.39,P值为0.0072,差异显著。失拟项F=7.67,P=0.1207(大于0.05),表明模型失拟不显著,真实提取率与模拟值基本一致,且与所选因素有较强的相关性,F值大小可判断各因素对提取率影响的强弱,F值越大,影响越强<sup>[19]</sup>。由此可判断影响程度顺序为Ca<sup>2+</sup>浓度>Mg<sup>2+</sup>浓度>乙醇浓度>料液比。

### 3.2.2 响应面图分析

根据实验数据,软件模拟得到的3D响应面图,响应面可以直观反映出乙醇浓度、料液比、Ca<sup>2+</sup>浓度、Mg<sup>2+</sup>浓度对红薯叶总黄酮提取率的影响。如图2所示,在测试范围内,随着四个因素的增加,红薯叶总黄酮呈现出先增高后降低的趋势,表明乙醇浓度、料液比、Ca<sup>2+</sup>浓度、Mg<sup>2+</sup>浓度在测试范围内具有相互影响和作用。响应面曲面斜率越大说明对应的因素对提取影响显著,综合观察,Mg<sup>2+</sup>对红薯叶总黄酮提取影响最大,Ca<sup>2+</sup>次之。

软件预测:红薯叶总黄酮提取最佳工艺为:Ca<sup>2+</sup>

表3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F值 F-value	P值 P-value	显著性 Significance
模型(Model)	0.42	14	0.030	4.39	7.2 × 10 <sup>-3</sup>	Significant
A	0.036	1	0.036	5.35	0.039	
B	5.633 × 10 <sup>-3</sup>	1	5.633 × 10 <sup>-3</sup>	0.83	0.380	
C	3.008 × 10 <sup>-3</sup>	1	3.008 × 10 <sup>-3</sup>	0.44	0.518	
D	7.5 × 10 <sup>-5</sup>	1	7.5 × 10 <sup>-5</sup>	0.011	0.918	
AB	0.1 × 10 <sup>-3</sup>	1	0.1 × 10 <sup>-3</sup>	0.015	0.905	
AC	0.4 × 10 <sup>-3</sup>	1	0.4 × 10 <sup>-3</sup>	0.059	0.812	
AD	0.010	1	0.010	1.47	0.248	
BC	0.029	1	0.029	4.26	0.061	
BD	3.6 × 10 <sup>-3</sup>	1	3.6 × 10 <sup>-3</sup>	0.53	0.480	
CD	4.225 × 10 <sup>-3</sup>	1	4.225 × 10 <sup>-3</sup>	0.62	0.445	
A2	0.22	1	0.22	32.38	0.1 × 10 <sup>-3</sup>	
B2	0.21	1	0.21	30.81	0.1 × 10 <sup>-3</sup>	
C2	0.079	1	0.079	11.64	5.2 × 10 <sup>-3</sup>	
D2	0.055	1	0.055	8.13	0.015	
残差 Residual	0.081	12	6.781 × 10 <sup>-3</sup>			
失拟项 Lack of fit	0.079	10	7.931 × 10 <sup>-3</sup>	7.67	0.121	Not significant
纯误差 Pure error	0.21 × 10 <sup>-3</sup>	2	0.100 × 10 <sup>-4</sup>			
总离差 Cor total	0.50	26				

浓度 187 mg/L、Mg<sup>2+</sup> 浓度 176 mg/L、乙醇浓度 71%、料液比 1:40,提取时间取 1 h,预测提取率为 2.60%。

### 3.2.3 验证性实验及浸膏制作

对预测最优工艺进行三组平行实验验证,提取率分别为 2.75%、2.78%、2.74%,平均值为 2.76% (RSD=0.75),响应面回归方程预测值与实际值较为相符。提取过程中引入 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 有利于红薯叶总黄酮的提取,较传统工艺提取率小幅提升(考虑到红薯叶产地、采摘时间、部位差异、种类、干燥方

式等因素对红薯叶中总黄酮含量的影响较大,我们仅参考文献报道的传统工艺方法<sup>[20]</sup>:60%乙醇水溶液 90℃回流提取 60 min,料液比 1:40,经验证,提取率为 2.2%),可能原因是 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 与总黄酮化合物结合,使溶液中游离的总黄酮浓度降低,有利于红薯叶中黄酮类化合物的溶出。根据(《中国药典》2015 版通则 2201)的热浸法,制得浸膏,总浸膏得率为 15.92%;经检测,浸膏中的黄酮含量为 17.32%。

### 3.3 抑菌活性研究

表4 最小抑菌浓度(MIC)

Table 4 Minimum inhibitory concentration (MIC)

细菌 Bacteria	最小抑菌浓度 MIC(μg/mL)					
	药液 Extract	对照品 1 Reference 1	对照品 2 Reference 2	对照品 3 Reference 3	对照品 4 Reference 4	对照品 5 Reference 5
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	62.5	125	250	-	-	-
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	31.25	125	125	-	-	-
枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	31.25	62.5	62.5	-	-	-

注:1. “-”表示无抑菌作用。

Note:1. “-” means no bacteriostatic effect.

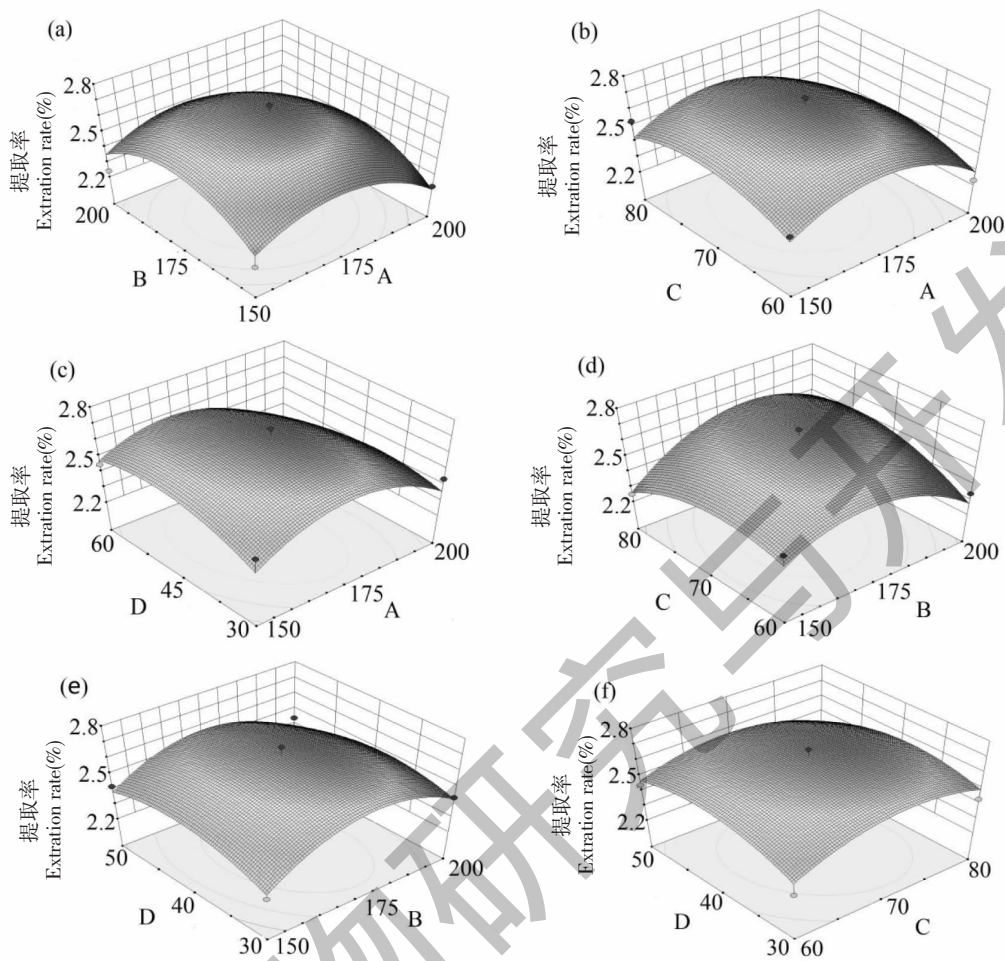


图2 各因素对红薯叶总黄酮提取率影响的3D响应面图

Fig. 2 3D response surface diagram of the effects of various factors on the extraction rate of total flavonoids from sweet potato leaves

结果表明,在红薯叶总黄酮的提取过程中引入  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  有助于提升其抑菌活性,提取过程中引入  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  的提取液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的最小抑菌浓度分别为 62.5、31.25、31.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ;未引入  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  提取液的最小抑菌浓度分别为 125、125、62.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。而在传统红薯叶总黄酮提取物溶液中后补加入  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  则对抑菌活性影响不大,单纯的  $\text{Ca}^{2+}$  溶液和  $\text{Mg}^{2+}$  溶液或者  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  溶液则无抑菌活性。由此可知,提取过程中溶液中的  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  与红薯叶总黄酮化合物可能形成某种具有较强抑菌活性的配合物,而这种配合物形成可能需要一定的反应条件,可能与红薯叶总黄酮的提取过程条件相似,具体的机理还需进一步验证。

#### 4 结论

本研究考察了硬水中含量最多的  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$

在对红薯叶的提取和抑菌的影响。通过单因素试验,筛选出对红薯叶总黄酮影响最显著的因素水平,通过 Box-Behnken 实验设计得出红薯叶总黄酮提取最优工艺为  $\text{Ca}^{2+}$  浓度 187  $\text{mg}/\text{L}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  浓度 176  $\text{mg}/\text{L}$ 、乙醇浓度 71%、料液比 1:40、提取时间为 1 h。经验证,实际提取率为 2.76%,相较传统的提取工艺相提取率有小幅度的提升。含有  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  提取工艺的研发为红薯叶的开发利用(深加工提取)提供了更多的选择,使得红薯叶总黄酮的提取成本得到降低,提取溶剂由“蒸馏水+乙醇”延伸为“自来水+乙醇”。

测试了在提取中引入  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  提取物抑菌效果。结果表明:在红薯叶总黄酮提取中引入  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  提取物抑菌活性显著提升,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的最小抑菌浓度分别为 62.5、31.25、31.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,低于未引入  $\text{Ca}^{2+}$  和

Mg<sup>2+</sup> 提取液。该结论为红薯叶开发和利用提供了更多的思路,为研究硬水中常见Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>对植物资源开发利用的影响提供新的思路和建立理论基础。

#### 参考文献

- Zhao Z, Liu L, Ou DH. Development status and future trend of Chinese traditional medicine industry [J]. J Nanjing Univ Chin Med; Soc Sci (南京中医药大学学报: 社科版), 2015, 16(1): 53-59.
- Mo GX. Metal ions and drug effects [J]. Pro Pharma Sci (药学进展), 1992, 1: 48-50.
- Kieffer WF. The inorganic chemistry of biological processes (Hugh, M. N.) [M]. Hoboken: John Wiley & Sons, 1981: 318-328.
- Yan Y, Zhang YL, Ge Y, et al. Synthesis of a rhodamine b derivative fluorescent probe and its determination for Fe<sup>3+</sup> [J]. Fine Chem (精细化工), 2019, 36: 1056-1061.
- Wang XH, Deng B, Zhang XJ, et al. Extraction of flavonoids from sweet potato leaves and determination of its antioxidative activity [J]. Chem Bioengin (化学与生物工程), 2009, 26(2): 32-35.
- Huang SL, Zhang JH, Liang BX, et al. Application value and development status of sweet potato leaf [J]. Mod Agr Sci Tech (现代农业科技), 2014, 19: 309-311.
- Tu ZC, Fu ZF, Wang H, et al. Comparison of antioxidant activities of various solvent extracts of sweet potato (*Ipomoea Batatas* (L.) Lam.) leaves and identification of antioxidant constituents of the merthanol extract [J]. Food Sci (食品科学), 2015, 36(17): 1-6.
- Cai J, Wang W. Study on sweet potato leaves health beverage [J]. China Western Cereals Oils Tech (西部粮油科技), 2003, 24(6): 49-50.
- Johson M, Pace RD. Sweet potatoes leaves: properties and synergistic interactions that promote health and prevent disease [J]. Nutr Rev, 2010, 68: 604-615.
- Gao YY, Zhang Y, Ji L. Research on bacteriostasis of systematic solvents extracts from sweet potato stem and leaf [J]. Food Sci (食品科学), 2006, 27: 174-176.
- Zhang XB. Study on bacteriostasis and hypoglycemic effect of polysaccharide and flavonoid from sweet potato stem and leaf [D]. Dalian: Dalian Polytechnic University (大连工业大学), 2008.
- Yan Y, Gao Y, Yang RR. A study on preparation and properties of sweet potato leaves mask [J]. J Shangluo Univ (商洛学院学报), 2019, 33(2): 29-34.
- Yan Y, Li YM, Zhang YL. Optimization of extraction technology of flavonoids from sweet potato leaves and antimicrobial and antioxidant activity [J]. Guangxi Forestry Sci (广西林业科学), 2018, 47: 311-315.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一卷) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 41-42.
- Chen S, Yu JP. Experimental study on anti-inflammatory and anti-bacterial effects of total flavonoids in rattan tea [J]. J Guiyang Coll Tradit Chin Med (贵阳中医学院学报), 2013, 35(1): 1-3.
- Zhao TF, Pang XL, Jiang JL. Optimization of sophorae flavescentis radix formula ethanol extraction and its bacteriostasis activity [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31: 163-169.
- Zhang HQ, Zhong XK, Huang QY, et al. Optimization of extraction of ursolic acid from *Ilex kudingcha* C. J. Tseng by response surface methodology and its antibacterial activity [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2018, 30: 1978-1985.
- Joshi S C, Verma A R, Mathela C S. Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(1): 37-40.
- Wang QZ, Yuan TF, Liu LL, et al. Optimization of flash extraction of flavonoids from leaves of *Podocarpus macrophyllus* by response surface method and antioxidant activity [J]. Fine Chemicals (精细化工), 2018, 35(1): 65-71.
- Lu Y, Wu CB, Bi HJ, et al. Extraction, purification and antioxidation of total flavonoids from sweet potato leaves [J]. Food Sci (食品科学), 2009, 30: 114-118.